October 1991
(edited November 1993)

2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid

Guideline

The interim maximum acceptable concentration (IMAC) for 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in drinking water is 0.1 mg/L (100 µg/L).

Identity, Use and Sources in the Environment

2,4-Dichlorophenoxyacetic acid, commonly referred to as 2,4-D, is a systemic chlorophenoxy herbicide used widely in Canada (more than four million kilograms annually)[1] in the control of broadleaf weeds in cereal cropland and on industrial property, lawns, turf, pastures and non-cropland. It is also used to control aquatic weeds. Commercial 2,4-D products are marketed as alkali salts, amine salts and ester formulations.

2,4-D has a molecular weight of 221.0 and a molecular formula of $C_8H_6O_3Cl_2$. It is soluble in organic solvents. The reported solubility of the free acid in water varies considerably and is given as 0.09% or 900 mg/L at 25°C.[2] In a review of the literature concerning the solubility of 2,4-D, Que Hee and Sutherland[3] selected the value of 522 mg/L as the most reliable. The dimethylamine salt is very soluble (300%), whereas the esters are insoluble in water but soluble in organic solvents.[2] 2,4-D has a vapour pressure of 1.05×10^{-2} mmHg at 25°C.[3] The vapour pressures of the various esters are lower, ranging from 1.1×10^{-3} mmHg for the ethyl ester to 2×10^{-6} mmHg for the isooctyl ester.[2]

Impurities may be present in the technical product as a result of the manufacturing process. These include 2,6-dichlorophenoxyacetic acid, the 2- and 4-chlorophenoxyacetic acids, bis-(2,4-dichlorophenoxy)acetic acid, and 2,4-dichlorophenol. During the 1960s, contamination with polychlorinated dibenzodioxins and furans was reported, but the most toxic congener, 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD), has not been found.[4] Changes in manufacturing practices and regulations now limit dioxin contamination to less than 0.1 ppm.

2,4-D may enter the environment through effluents and spills arising from its manufacture and transport and through direct application as a weed control agent. Esters of 2,4-D are readily hydrolysed to the free acid, which, in turn, is rapidly degraded in soil under many environmental conditions. 2,4-D is removed from the environment principally by biodegradation through several possible pathways, with the formation of 2,4-dichlorophenol as an intermediate.[5] The half-life of 2,4-D in soil is reported to range from four to seven days in most soil types[6-8] and up to six weeks in acidic soils.[8-10] Factors influencing the biodegradation rate include the concentration and formulation of the herbicide applied, soil type, concentration and acclimatization of micro-organisms, moisture, temperature, pH and oxygen content.[2,11,12] The extent to which 2,4-D will leach to groundwater is inversely related to the organic matter content and directly related to soil pH.[3] 2,4-D was considered a "marginal leacher" by the U.S. Environmental Protection Agency (EPA)[13] and given an intermediate rating by Agriculture Canada.[14]

Residues of 2,4-D may be present in surface waters as a result of direct application, runoff or aerial drift from treated areas or leaching from groundwaters. The herbicide is rapidly biodegraded in water, although some may be degraded by photolysis near the surface. The main degradation product of 2,4-D is 2,4-dichlorophenol.[15] Persistence of 2,4-D in aquatic systems is dependent on water type, nutrient levels, rain, sunlight, temperature, population and previous exposure of micro-organisms and oxygen content.[3,16] Half-lives range from one to several weeks in aerobic conditions and can exceed 80 to 120 days in anaerobic conditions.[17] 2,4-D is not expected to accumulate in bottom sediments and muds.[3] 2,4-D does not bioaccumulate in aquatic or terrestrial organisms (with the exception of some algae) because of its rapid degradation.[2]

Atmospheric contamination by 2,4-D may occur as a result of volatilization and drift from application by spraying. Residues in the atmosphere are predominantly in the form of isopropyl and butyl esters.[17] 2,4-D is removed from the atmosphere by photo-oxidation and rainfall, with a half-life of less than one day.[18]

Exposure

2,4-D was detected in 52 of 805 samples of raw and treated drinking water from municipal and private supplies in surveys conducted in six Canadian provinces from 1971 to 1986. The maximum concentration found was 29 µg/L (ppb).[19] No residues have been detected in drinking water samples analysed routinely in U.S. market basket surveys (detection limit 5 µg/L).[4] Seventy-eight of 447 samples of surface waters in three Canadian agricultural areas surveyed from 1981 to 1985 had detectable 2,4-D concentrations; mean annual detectable concentrations of the herbicide in these areas ranged from 0.01 to 0.7 µg/L.[20] 2,4-D was detected in 38.5% of 1386 surface water samples from the Canadian prairies tested from 1971 to 1977 (detection limit 0.004 µg/L); mean levels were less than 0.3 µg/L.[21]

Although 2,4-D has low potential for bioaccumulation, human exposure to this herbicide may occur from residues in agricultural food commodities. Based on the maximum limits for pesticide residues established by the Food Directorate, the theoretical maximum daily intake of 2,4-D in food averages 0.87 µg/kg bw for a 60-kg adult. The intake of 2,4-D found in a U.S. total diet study for 1987 was 0.0001 µg/kg bw per day for a 60- to 65-year-old female and less than 0.0001 µg/kg bw per day for six- to 11-month-old children and 14- to 16-year-old males.[22] This is three to four orders of magnitude below the theoretical intake. No residues of 2,4-D ester were detected in a total diet study conducted in Canada during 1976 to 1978 (minimum detectable concentration 500 ppb).[23]

In surveys of ambient air concentrations of 2,4-D in the prairies, where the herbicide was heavily used, 30% of samples from 1966 to 1975 contained less than 0.01 µg/m^3; 40% of the samples had between 0.01 and 0.099 µg/m^3; 20% contained between 0.1 and 1 µg/m^3; and 10% had more than 1 µg/m^3.[24] Average intake of airborne 2,4-D is difficult to estimate but is extremely low.

Analytical Methods and Treatment Technology

Residues of 2,4-D and its salts or esters in water are commonly measured by extraction, chemical derivatization, separation by gas–liquid chromatography and electron capture detection. This method is suitable for detection of picogram levels.[4] Electrolytic conductivity detection is also used, with a detection limit of 0.1 µg/L.[20] Other methods used in the determination of 2,4-D residues include high-performance liquid chromatography and thin-layer chromatography.[3]

Common water treatment processes are not effective in removing 2,4-D from water. Activated carbon adsorption, either powdered or granulated, is the method of choice for removing 2,4-D from drinking water supplies. Powdered activated carbon removed 90% of an initial dose of 1.0 mg/L.[25] No information was available on the effectiveness of this treatment at lower concentrations of 2,4-D.

Health Effects

Metabolism

2,4-D, administered orally as the free acid or as the sodium or amine salts, is absorbed rapidly and almost completely in rats, calves, pigs and human volunteers.[26-28] The average half-time for absorption in humans was four hours.[28] Absorption is much slower and less complete for esters of 2,4-D, which are probably hydrolysed to the free acid before absorption.[29] In humans, dermal absorption of the acid was slow.[30] Dermal absorption of 2,4-D acid ranged from 6% on the human forearm to 36% on the rabbit back. Dermal absorption of 2,4-D isooctyl salt was also 6% in humans but up to 50 to 56% in rabbits and monkeys, respectively. Conversely, dermal absorption of 2,4-D amine in aqueous solution was 58% in humans and 12 to 20% in rabbits and rats. Large variations in dermal absorption were noted depending on anatomical site and on the solute carrier.[31,32]

In rats, after absorption by the oral route, 2,4-D acid was distributed throughout the body, with peak concentrations in blood after three hours[33] and in kidneys, liver, spleen and lungs after six hours.[29] After low doses, tissue concentrations were highest in kidneys, liver, blood and lungs. The concentration in brain appeared to be lower than the concentration in other tissues in rats,[26] pigs[29] and humans.[17] High doses (250 mg/kg bw) resulted in increased accumulation in the brain of rats.[34]

In male human volunteers given an oral dose of 5 mg/kg bw, elimination of 2,4-D was fairly rapid, with a half-time for plasma clearance of 11.6 hours and an elimination half-time of 17.7 hours. Eighty-two percent was excreted unchanged in urine, and 13% was excreted as a conjugate.[28] Similar results were obtained in another study on six male volunteers in which the highest concentration in plasma was reached in 7 to 24 hours, with a plasma clearance half-time of 33 hours.[35] Seventy-five percent was excreted unchanged in urine after 96 hours, the rate being somewhat slower than in the previous study.[28] There was considerable individual variation in pharmacokinetics; a half-life of 12 to 22 hours for urinary clearance was reported after occupational exposure via inhalation.[36]

In rats, orally administered 2,4-D (25 mg/kg bw) was excreted largely unchanged, principally in urine. Clearance was saturable above a dose of 50 mg/kg bw.[37] Excretion of low doses was rapid; in rats, most of the administered dose was eliminated within 24 hours,[26] and up to 99% of a small radioactively labelled dose was

eliminated in 48 hours. A smaller percentage of doses above 50 mg/kg bw was eliminated over an 11-day period.[26] The dimethyl amine salt of 2,4-D was also rapidly absorbed and excreted after a gavage administration to rats, with peak concentration in blood in 20 minutes and 88% excretion within six hours.[27]

Human Health Effects

Symptoms of acute exposure to high doses of 2,4-D have been reported as a result of poisonings from accidental ingestion and occupational exposure during manufacture or application, usually from a combination of high dermal and inhalation exposures. Symptoms include effects on the gastrointestinal tract, such as nausea, vomiting and diarrhoea, direct myotoxic effects such as muscular weakness, stiffness, muscular spasms and partial paralysis, effects on the kidney, pulmonary oedema and effects on the central and peripheral nervous systems.[4]

Most epidemiological studies on 2,4-D conducted to date have dealt with multiple exposures to various chlorophenoxy herbicides, particularly 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T), and to other chemical agents, including other pesticides and synthetic organics. Until recently, most studies have dealt with populations exposed in the 1950s and 1960s, when the trichlorophenol-based chlorophenoxy herbicides 2,4,5-T and silvex were contaminated with polychlorinated dioxins and furans, including TCDD, which has been associated with the induction of soft-tissue sarcomas (STS).[38] Non-trichlorophenol-based herbicides are believed to have been much less contaminated with the more toxic dioxins and have not been shown to contain TCDD.[4]

In a series of population-based case–referent studies conducted in Sweden in the late 1970s and early 1980s, strong associations, with relative risks (RR) in the range 5 to 7, were noted between STS and multiple lymphomas, including Hodgkin's disease (HD) and non-Hodgkin's lymphoma (NHL), and the use of chlorophenoxy herbicides (including 2,4,5-T) by agricultural or forestry workers.[39-42] The Swedish studies served to focus attention on STS, NHL and HD as the outcomes of interest in succeeding case–referent and cohort studies.

STS

In a registry-based study (55 cases) to test the reproducibility of their previous findings for STS, Hardell and Eriksson[43] observed a threefold increase in risk for STS (based on nine cases), or about half the risk observed in their previous study,[39] for those exposed to chlorophenoxy herbicides (including 2,4,5-T), when compared to population-based controls. This increase in relative risk was reduced to twofold, or borderline significance ($p = 0.09$), when compared with cancer controls; this indicated that, in this study, recall bias on the part of cancer patients may have played a role in the observed elevation of risk. In a population-based case–control study in central Sweden of 237 cases with STS, exposure to phenoxyacetic acids (including 2,4,5-T) did not result in a significant increase in risk (RR 1.34; confidence interval [CI] 0.70 to 2.56). Of the 23 cases and 18 controls who were exposed, only four cases and seven controls were exposed to phenoxyacetic acids other than 2,4,5-T (i.e., assumed to be without TCDD contamination). The relative risk was not significant for this group because of low numbers.[44]

Other case–referent studies on STS conducted in New Zealand,[45,46] Italy[47] and the United States (Kansas[48] and Washington[49]) have not confirmed the association between STS and chlorophenoxy use observed in the original Swedish studies. The Kansas study[48] involved exposure to a number of herbicides including 2,4-D, but little to other chlorophenoxy herbicides, whereas subjects in the other three studies were exposed to several chlorophenoxy herbicides, with significant exposure to 2,4,5-T.

Results were negative in several cohort studies carried out in order to investigate STS in chemical workers engaged in the production of chlorophenoxy herbicides and in occupational groups whose use of these herbicides has been extensive.[50-54] No cohort was exposed solely or principally to 2,4-D, including the "2,4-D cohort" of 878 chemical workers engaged in the manufacture of 2,4-D at the U.S. facilities of Dow, 75% of whom had also been exposed to 2,4,5-T.[50] Because of the small size of most of the cohorts, not much reliance could be placed on the results, whether positive or negative. In an international historical cohort study, supported by IARC (International Agency for Research on Cancer), on 18 390 production workers or sprayers from 20 cohorts in 10 countries, a statistically non-significant twofold excess risk was noted for mortality from STS. For people first exposed 10 to 19 years before death, this excess was sixfold; however, results were based on only four observed deaths. An additional three cases were still alive, and two cases had been misclassified (not counted), although they had died of what was probably STS, according to the authors. Some effort was made in this study to separate workers potentially exposed to TCDD (n = 11 445, workers exposed to 2,4,5-T or 2,4,5-trichlorophenol) from those who were not (n = 6845). There was no difference in risk between the two groups.[55]

NHL

In a population-based Swedish case–referent study on malignant lymphoma similar to the STS studies, the combined relative risk for HD and NHL was 4.8 (CI 2.9

to 8.1), rising to a relative risk of 7.0 for more than 90 days' total lifetime exposure to a mixture of chlorophenoxy herbicides.[40,56] The relationship between chlorophenoxy exposure and NHL has been examined in four additional case–referent studies in New Zealand and the United States; all studies were conducted similarly to the Swedish studies, but only one specifically examined 2,4-D,[57,58] although an earlier study by the same group found that most chlorophenoxy herbicide use was attributable to 2,4-D.[48] The risk for NHL was not elevated for New Zealand farmers or any individuals who sprayed pesticides, primarily 2,4-D and 2,4,5-T.[59,60] Exposure characterization appeared to be poor in this study and could well have led to random misclassification errors with consequent inability to detect differences in risk. The remaining three studies all suggested a weak link between NHL and chlorophenoxy herbicide use (but not 2,4-D specifically, except in one study in Nebraska). Other chemicals also used concurrently in farming activities may have acted as covariants. In a large study in the state of Washington, with 576 cases of NHL, the relative risk increased from 1.1 (CI 0.8 to 1.4; not significant) for subjects with any past occupational exposure to chlorophenoxy herbicides, primarily 2,4-D and 2,4,5-T, to 1.7 (CI 1.0 to 2.8; borderline significance) for people occupationally exposed to chlorophenoxy herbicides for at least 15 years, and with a minimum 15-year latent period.[49]

In a case–referent study in Kansas (200 cases), farm herbicide use was marginally associated with NHL, with a relative risk of 1.4 (CI 0.9 to 2.6; not significant), but relative risk rose to 2.2 (CI 1.2 to 4.1; significant) for farmers who had used chlorophenoxy herbicides at any time (almost all 2,4-D), and to 6.0 (CI 1.9 to 19.5; significant) for those who used unspecified herbicides more than 20 days per year. The trend to increasing risk with increasing number of days' use per year was highly significant ($p = 0.0004$).[48] In a second study in Nebraska by the same group, the analysis concentrated on exposure to 2,4-D. The relative risk was reduced to about half the risk observed in the Kansas study for those who mixed or applied 2,4-D, and it was significant only when data were corrected for organophosphate use. For those who used 2,4-D more than 21 days per year, the relative risk of 3 was not significant, but the trend towards increasing risk with increasing number of days' use per year was marginally significant ($p = 0.051$). There was no trend apparent towards increasing risk as the number of years' exposure increased. The risk was highly significant for those who did not take precautions to reduce exposure by changing clothing soon after exposure or by washing immediately after handling the pesticide. There was no increase in relative risk with the failure to use protective equipment.[57,58] These results are consistent, for the most part, with the results obtained previously by the same research group in Kansas,[48] but the risk estimates were lower and were non-significant in some cases.

In an incidence study in an agricultural area of northern Italy in which exposure was to a mix of chlorophenoxy herbicides including 2,4-D, 2,4,5-T and MCPA, the incidence of NHL (n = 141 cases) increased from 8.8 per 100 000 over the entire area to 18.2 per 100 000 in the most heavily exposed area (rate ratio 2.2; CI 1.4 to 3.5). Exposure was measured over two years in water and soil, 10 years previously; 2,4-D concentrations in water reached 70 to 460 µg/L in the most heavily contaminated area.[61]

No excess risk was observed for NHL in most of the cohort studies on occupational exposure,[50,51,53,54] although the cohorts generally were too small to provide any conclusive evidence, and all had exposures to chlorophenoxy herbicides in addition to 2,4-D. In the British cohort study, two deaths from NHL were recorded (standard mortality ratio [SMR] 272), more than 10 years after first exposure, and an additional case was still alive.[54] A recent cohort study on farmers in Saskatchewan, where the use of 2,4-D was extensive (constituting 90% and 75% by weight of all herbicides used in the 1960s and 1970s, respectively), showed a trend to increased risk of NHL with increased use of herbicides as measured by the number of hectares sprayed. Because of concomitant exposure to other agents, it was not possible to infer that the association was specifically with 2,4-D.[62] In the IARC study on 20 cohorts with 18 390 workers exposed to chlorophenoxy herbicides, there was no increase in risk of NHL (SMR 95), based on a total of 15 deaths.[55]

HD

Other than the original Swedish studies in which HD was grouped together with NHL, there is little evidence for an increase in risk of HD resulting from exposure to chlorophenoxy herbicides, based on an additional case–referent study[48] and on five cohort studies.[50,51,53,55]

Other endpoints that have been examined by one or more investigators include multiple myeloma, leukaemia, and lung, stomach and prostate cancers. However, except for lung cancer, which is known to have multiple aetiologies, no excess risks were detected for persons exposed to chlorophenoxy herbicides.

Chlorophenoxy herbicides, as a group including 2,4-D, 2,4,5-T and MCPA, have been classified by IARC in Group 2B (possibly carcinogenic to humans).[63] However, based on the studies examined here, it is not possible to ascertain the status of individual chlorophenoxy herbicides with respect to carcinogenicity, as almost all populations studied were exposed to a mixture of chlorophenoxy herbicides. In the only study

in which chlorophenoxy herbicide exposure was clearly to 2,4-D only,[57] the association with NHL was weak.

No particular pattern emerges when the data are analysed by comparing populations exposed to mixtures of 2,4,5-T, which often contained TCDD and other dioxins, with populations exposed to mixtures that did not contain 2,4,5-T or other trichlorophenol-based products. In the IARC multi-cohort study, the risk for STS was slightly increased but could not be attributed to exposure to TCDD.

Of the three endpoints examined most frequently, the associations seen in most studies were weak, usually with less than twofold increases in relative risk, with the exception of the early studies in Sweden.[40,56] The association with NHL appears to be more consistent than that with STS, in three case–control studies and an incidence study; however, this association is not well supported by six cohort studies, including the large IARC study on production workers. It is possible that any association is due to concurrent exposure to some other agent or agents. Farming and exposure to other pesticides and solvents have also been associated with NHL[49,62] and with cancers of the lymphatic system.[64,65]

Genotoxicity

The results of short-term genotoxicity studies conducted to date in humans have been largely negative. For example, *in vivo* SCE tests[66] and *in vitro* and *in vivo* chromosome aberration tests[67] were negative in humans.

In forestry workers engaged in spraying operations with 2,4-D and MCPA, 22 men had detectable levels of 2,4-D in their urine, ranging from 0.24 to 10.02 mg/L. No significant elevations were observed in SCE before, during and after spraying activities. Counts were in the same range as 15 control subjects.[66] Similar results were obtained for the frequency of chromosomal aberrations between 15 controls and 12 workers exposed to 2,4-D and MCPA, as estimated by urinary 2,4-D levels.[67] Other *in vivo* human studies have been reviewed, but results could not be assessed, as workers were exposed to mixtures of 2,4-D and other (non-chlorophenoxy) herbicides.[42]

Health Effects in Experimental Animals

2,4-D is of slight acute toxicity in mammals. The oral LD_{50} for 2,4-D was reported to be 607 and 726 mg/kg bw for male and female F344 rats, respectively, with approximately similar values (536 to 754 mg/kg bw for males and 424 to 840 mg/kg bw for females) for the acid equivalent of the isooctyl, isobutyl, butyl and butoxyethanol esters, and for the sodium and dimethylamine salts.[37] Similar values were obtained for most other species except dogs, in which the oral LD_{50} was 100 mg/kg bw.[4]

In a 13-week subchronic study in Fischer 344 rats, technical (97.5% pure) and purified 2,4-D were administered in the diet at doses of 0, 15, 60, 100 and 150 mg/kg bw per day to groups of 15 animals per sex, dose and compound.[37] Body weights were reduced about 9% at the highest dose in both sexes. Dose-related degenerative changes in the descending proximal renal tubules in male rats and mild cytoplasmic alterations in the renal proximal tubules in both sexes were observed at all dose levels. Relative kidney weight increases were observed in both sexes at 60, 100 and 150 mg/kg bw per day and in males also at 15 mg/kg bw per day. Relative liver weights were increased at the two highest doses, along with slight swelling and staining changes in liver cells, considered non-specific and minor by the authors. There were no significant differences in toxicological response between purified and technical-grade 2,4-D. A no-observed-adverse-effect level (NOAEL) was not established in this study, as effects were noted at the lowest dose level of 15 mg/kg bw per day.

2,4-D has been shown to act as a peroxisome proliferator,[68] and it has been suggested[69,70] that peroxisome proliferators may act as epigenetic carcinogens. In an initiation–selection–promotion protocol for induction of liver tumours, five peroxisome proliferators including 2,4-D were tested for their promoting and modulating action in hepatocarcinogenesis. Male Wistar rats, 8 to 12 per group, were given a single intraperitoneal dose of diethylnitrosamine as an initiator. Two weeks later, they were given a necrogenic dose of carbon tetrachloride and submitted to a selection procedure by being fed diets containing 2-acetylaminofluorine for a period of two weeks. The animals were then divided into six groups and fed a basal diet (controls) or diets supplemented with 0.05% 2,4-D, or four other compounds, for 28 weeks. Administration of all the compounds except 2,4-D and the control resulted in a 16 to 83% incidence of hepatocellular carcinomas (incidence was 16% for 2,4,5-T). There were no tumours in the 2,4-D or control groups. It was concluded that peroxisome proliferation is not necessarily linked to tumour production under the conditions of this subchronic study.[71]

In a two-year chronic toxicity/oncogenicity study in Fischer 344 rats (60 per sex per dose), animals were administered 2,4-D in the diet at doses equivalent to 0, 1, 5, 15 and 45 mg/kg bw per day. Ten rats per group were sacrificed at the end of one year.[72] There were no treatment-related effects on survival in any group. Body weights were 9% lower in high-dose females than in controls, and a non-significant reduction of 5% was also observed in high-dose males. Food consumption was also reduced in the high-dose group in both sexes (as the reduction in body weight was less than 10%, it was probably due to a reduction in food intake). There were

no dose-related effects on clinical, haematological or biochemical parameters. Kidney and thyroid/parathyroid weights were increased significantly in both males and females at 45 mg/kg bw per day. At a dose of 15 mg/kg bw per day, significant increases were observed in kidney weights in males only and in thyroid to parathyroid weight ratios in females only. No histopathological abnormalities were observed in the thyroid/parathyroid. However, at doses of 5, 15 and 45 mg/kg bw per day, an increased incidence of brown pigment was observed in kidney tubular cells of both males and females. In females, renal transitional epithelial cell hyperplasia, significant only at the highest dose, was also observed. Re-examination of the slides indicated slight pigment also in several animals at the 1 mg/kg bw per day dose level. An increased frequency of renal microcalculi was observed in males at 15 and 45 mg/kg bw per day and in females at 45 mg/kg bw per day. Vacuolization of the cytoplasm of the renal cortex was noted in females at 45 mg/kg bw per day. The NOAEL for non-neoplastic effects in this study was considered to be 1 mg/kg bw per day.

In a two-year study in which B6C3F_1 mice (60 per sex per dose) were administered 2,4-D in the diet at doses equivalent to 0, 1, 5, 15 and 45 mg/kg bw per day, the only evidence of an effect was an increase in cytoplasmic homogeneity of renal tubular epithelium in male mice at 5 mg/kg bw per day and above. There were no treatment-related effects on survival, body or organ weights, clinical findings or gross pathology. The NOAEL for non-neoplastic effects was 1 mg/kg bw per day.[73]

2,4-D did not exhibit any carcinogenicity in three long-term studies in rats and mice;[74,75] however, these studies were inadequate for the evaluation of carcinogenicity.[42,75] In the recent bioassay conducted in B6C3F_1 mice,[73] there were no oncogenic effects at any dose; however, the maximum tolerated dose (MTD) was unlikely to have been reached, thus precluding an assessment of oncogenicity. In the two-year oncogenicity bioassay in Fischer 344 rats,[72] an increase in astrocytomas of the brain was observed in males in the highest dose group of 45 mg/kg bw per day (6 tumours), as well as a significant positive dose-related trend for this effect. The number of tumours observed in males was 1, 0, 0, 2 and 6 for doses of 0, 1, 5, 15 and 45 mg/kg bw per day, respectively, with an incidence of 3.6% in the high-dose group (2.8% if only the four tumours from the standard number of brain sections is considered). There was no reduction in tumour latency; tumours were seen in males only; no pre-neoplastic lesions were observed in any group; all tumours were solitary; and there was no trend towards increased anaplasia in treated animals. The systemic toxicity noted in the study supports the conclusion that an MTD was reached (although the U.S. EPA concluded that it was not). New bioassays have been instituted to clarify the status of 2,4-D with respect to its carcinogenicity to animals.

Because dogs are subject to canine malignant lymphoma, which is aetiologically, histologically and behaviourally similar to NHL, a canine hospital-based case–control study was carried out by the U.S. National Cancer Institute (NCI) in Minnesota, Indiana and Colorado on 491 cases, 466 non-tumour controls and 479 tumour controls, in order to investigate the risk associated with the use of chemicals around the home, including 2,4-D. There was a modest increase in risk (odds ratio [OR] 1.3; CI 1.04 to 1.67) among dogs whose owners applied 2,4-D to their lawns, and the odds ratio rose to a twofold excess with four or more yearly applications (p for trend <0.02). A wide variety of household factors were taken into consideration as potential confounders.[76] These results were consistent with findings in humans.

The results of short-term genotoxicity studies conducted to date in animals have been largely negative. 2,4-D was not mutagenic in a number of microbial assays on *Salmonella typhimurium* (various strains), *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli*. These studies have been reviewed in several publications.[4,63,74,75,77] Gene conversion tests in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* were positive at low pH but not at neutral pH.[78] Positive results were obtained in mutation and chromosome aberration tests in plants, possibly as a result of cytotoxicity.[63,75]

Results in mammalian cells have generally been negative overall, particularly in *in vivo* tests. *In vitro* tests have given mixed results. An unscheduled DNA synthesis test gave negative results in rat hepatocytes[79] and one of two tests on human fibroblast cells,[80] with a positive result in the other.[81] Sister chromatid exchange (SCE) tests *in vitro* gave negative results in Chinese hamster ovary cells[70] and positive results in human lymphocyte cells.[82] *In vivo* SCE tests were negative in the mouse,[83] rat lymphocytes[70,84] and hamster.[70] Chromosome aberration tests *in vivo* were positive in rats at 35 and 70 mg/kg bw but negative at 17.5 mg/kg bw. A dose–response relationship was observed.[65]

Reproduction, as measured by fertility and litter size, was not affected by doses of 2,4-D up to 1500 µg/g of diet (about 75 mg/kg bw) in a three-generation study in rats. However, the number of pups surviving to weaning was sharply reduced at 75 mg/kg bw but was unaffected by a dose of 25 mg/kg bw.[86] In a two-generation rat reproduction study submitted by the Industry Task Force, no definite treatment-related reproductive effects were apparent. However, the study was flawed by a possible infection in some animals. A NOAEL was not established.[87]

In rats orally dosed with 2,4-D on days 6 to 15 of gestation, there were no effects on fertility, gestation, viability of pups and neonatal growth at any dose up to 87.5 mg/kg bw, but administration of the isooctyl or propylene glycol butyl ether esters at 75 or 87.5 mg/kg bw resulted in decreased viability of offspring.[88] Abnormal spermatogenesis and reductions in testis and prostate weights have been reported in rats administered 87.5 mg/kg bw of 2,4-D butyl ester, but no effects were seen at 37.5 mg/kg bw.[89] It was suggested that toxicity could have been caused by the surfactant contained in the formulation used.[4]

2,4-D given in the drinking water of rats at a concentration of 1000 mg/L during pregnancy and for an additional 10 months did not cause any effects on reproduction, and there were no malformations observed in the young. The second-generation rats given 2,4-D at 1000 mg/L in drinking water for two years showed retarded growth and increased mortality.[74,90]

No consistent effects on foetal mortality, viability, or abnormalities were observed in hamsters administered technical 2,4-D (without detectable dioxin contamination) by gavage at doses of 0, 20, 40, 60 or 100 mg/kg bw on days 6 to 10 of gestation.[91]

Administration of 2,4-D and its butyl, isooctyl and butoxyethanol esters to rats on days 6 to 15 of gestation caused reduced foetal weights and increased the frequency of minor skeletal malformations from 5 to 10% in controls to 50 to 70% at doses of 100 mg/kg bw or higher; this effect was noted only at 300 mg/kg for the dimethylamine salt. There were no lasting effects on survival, weight gain and reproductive ability of progeny.[92] Embryotoxicity and foetotoxicity including reduced foetal body weight, subcutaneous oedema, delayed ossification and wavy ribs were observed in rats administered 2,4-D or its isooctyl and propylene glycol butyl ether esters at doses of 50 to 87.5 mg/kg bw on days 6 to 15 of gestation. The NOAEL was 25 mg/kg bw. 2,4-D and its esters were not teratogenic at any dose.[88] Except for an increase in rib buds at 87.5 mg/kg bw caused by the propylene glycol butyl ether and isooctyl esters of 2,4-D, no effects were observed in a repeat experiment using the same dosing regimen.[93]

In mice, embryotoxicity and foetotoxicity (reduced foetal weight, increased foetal mortality) were observed at a dose of 1 mmol/kg bw per day (221 mg/kg bw) of 2,4-D and the isopropyl and isooctyl ester of 2,4-D. Teratogenic effects (cleft palate) were observed at doses of 124 mg/kg bw or greater for 2,4-D but not for the esters.[94]

Classification and Assessment

Although a number of analytical epidemiology studies have been conducted on 2,4-D and related chlorophenoxy compounds, the evidence for their carcinogenicity remains inconclusive. These studies have almost all dealt with multiple exposures to mixtures of chlorophenoxy herbicides, other pesticides and other organic compounds. Most studies have focused on three endpoints — STS, NHL and HD. Several case–control studies were suggestive of a causal association between farming, chlorophenoxy herbicide use and NHL but were not consistent with results from other studies, particularly occupational cohort studies. The association with STS, commonly attributed to dioxins, is at best weak and inconsistent.

Oral administration of 2,4-D did not induce tumour formation in male or female mice or in female rats in two chronic bioassays. A slight dose-related increase in brain tumours was noted in male rats at the highest dose administered. The results were difficult to interpret, and the studies were considered to be limited for several reasons. Currently available evidence suggests that 2,4-D is non-genotoxic. 2,4-D has therefore been classified in Group III (possibly carcinogenic to humans), according to the classification scheme adopted for drinking water.

For compounds classified in Group III, the acceptable daily intake (ADI) is derived on the basis of division of a NOAEL by appropriate uncertainty factors. A provisional ADI for 2,4-D was established, based on kidney toxicity in rats, as follows:

$$\text{ADI} = \frac{1 \text{ mg/kg bw per day}}{100} = 0.01 \text{ mg/kg bw per day}$$

where:

- 1 mg/kg bw per day is the NOAEL observed in a two-year dietary toxicity/oncogenicity study in rats, in which tubular cell pigmentation in the kidney was observed at the next highest dose of 5 mg/kg bw[72]
- 100 is the uncertainty factor (×10 for interspecies variation; ×10 for intraspecies variation).

Rationale

For compounds in Group III (possibly carcinogenic to humans), an interim maximum acceptable concentration (IMAC) for 2,4-D in drinking water may be derived as follows:

$$\text{IMAC} = \frac{0.01 \text{ mg/kg bw per day} \times 70 \text{ kg bw} \times 0.20}{1.5 \text{ L/d}} = 0.09 \text{ mg/L}$$

where:

- 0.01 mg/kg bw per day is the ADI, as derived above
- 70 kg is the average body weight of an adult
- 0.20 is the proportion of total daily intake of 2,4-D allocated to drinking water (the theoretical maximum food intake from residues in food is less than 10% of the ADI)
- 1.5 L/d is the average daily consumption of drinking water for an adult.

The current guideline of 0.1 mg/L will be retained for 2,4-D in drinking water in view of the small difference between the old and the new calculations, but it will be changed from a maximum acceptable concentration (MAC) to an interim value (IMAC) until new studies that clarify the status of 2,4-D with respect to carcinogenicity are available and a re-evaluation is completed.

References

1. Environment Canada/Agriculture Canada. Pesticide Registrant Survey, 1986 report. Commercial Chemicals Branch, Environment Canada, Ottawa (1987).

2. World Health Organization. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) — environmental aspects. Environmental Health Criteria 84. International Programme on Chemical Safety, Geneva (1989).

3. Que Hee, S.S. and Sutherland, R.G. The phenoxyalkanoic herbicides. Vol. I. Chemistry, analysis, and environmental pollution. Chemical Rubber Company Series in Pesticide Chemistry. CRC Press, Boca Raton, FL (1981).

4. World Health Organization. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). Environmental Health Criteria 29. International Programme on Chemical Safety, Geneva (1984).

5. Loos, M.A. Phenoxyalkanoic acids. In: Herbicides — chemistry, degradation, and mode of action. P.C. Kearney and D.D. Kaufman (eds.). Marcel Dekker, New York, NY (1975).

6. Altom, J.D. and Stritzke, J.F. Degradation of dicamba, picloram and four phenoxy herbicides in soil. Weed Sci., 21: 556 (1973).

7. Smith, A.E. Degradation, fate, and persistence of phenoxyalkanoic acid herbicides in soil. Rev. Weed Sci., 4 (1989). Cited in Smith, A.E., Aubin, A.J. and Biederbeck, V.O. Effects of long-term 2,4-D and MCPA field applications on soil residues and their rates of breakdown. J. Environ. Qual., 18: 299 (1989).

8. Thompson, D.G., Stephenson, G.R., Solomon, K.R. and Skepasts, A.V. Persistence of (2,4-dichlorophenoxy) acetic acid and 2-(2,4-dichlorophenoxy) propionic acid in agricultural and forest soils of northern and southern Ontario. J. Agric. Food Chem., 32: 578 (1984).

9. Sattar, M.A. and Paasivirta, J. Fate of chlorophenoxyacetic acids in acid soil. Chemosphere, 9: 745 (1980).

10. Torstensson, N.T.L. Degradation of 2,4-D and MCPA in soils of low pH. Environ. Qual. Saf. (Suppl.), 3: 262 (1975).

11. Sandmann, E.R.I.C., Loos, M.A. and van Dyk, L.P. The microbial degradation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in soil. Rev. Environ. Contam. Toxicol., 101: 1 (1988).

12. Ou, L.-T. 2,4-D degradation and 2,4-D degrading microorganisms in soils. Soil Sci., 137: 100 (1984).

13. U.S. Environmental Protection Agency. EPA draft final list of recommendations for chemicals in the national survey for pesticides in groundwater. Chem. Regul. Rep., 9: 988 (1985).

14. McRae, B. Characterization and identification of potentially leachable pesticides and areas vulnerable to groundwater contamination by pesticides in Canada. Publication No. 89-01, Pesticides Directorate, Agriculture Canada (1989) (revised 1991).

15. Canadian Council of Resource and Environment Ministers. Canadian water quality guidelines. Inland Waters Directorate, Environment Canada (1987).

16. Hazardous Substances Databank. Toxicology Data Network. U.S. National Library of Medicine, Bethesda, MD (1989).

17. National Research Council of Canada. Phenoxy herbicides — their effects on environmental quality, with accompanying scientific criteria for 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). Associate Committee on Scientific Criteria for Environmental Quality, Ottawa (1978).

18. Gray, D.A., Sugatt, R.H., Foote, K., Wilbur, S.B., Remington, M.B., Rosenberg, A. and Orzel, D. Update and revision of multimedia criteria document for 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. SRC-Tr83-721, Syracuse Research Corporation, Syracuse, NY (1983).

19. Hiebsch, S.C. The occurrence of thirty-five pesticides in Canadian drinking water and surface water. Unpublished report prepared for the Environmental Health Directorate, Department of National Health and Welfare (1988).

20. Frank, R. and Logan, L. Pesticide and industrial chemical residues at the mouth of the Grand, Saugeen and Thames rivers, Ontario, Canada, 1981–85. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 17: 741 (1988).

21. Gummer, W.D. Pesticide monitoring in the prairies of western Canada. Environ. Sci. Res., 16: 345 (1980).

22. Yess, N.J. Food and Drug Administration Pesticide Program: Residues in foods — 1987. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 71(6): 156A (1988).

23. McLeod, H.A., Smith, D.C. and Bluman, N. Pesticide residues in the total diet in Canada, V: 1976 to 1978. J. Food Saf., 2: 141 (1980).

24. Grover, R., Kerr, L.A., Wallace, K., Yoshida, K. and Maybank, J. Residues of 2,4-D in air samples from Saskatchewan: 1966–1975. J. Environ. Sci. Health, B11(4): 331 (1976).

25. Department of National Health and Welfare. Water treatment principles and applications, a manual for the production of drinking water. Canadian Water and Wastewater Association, Ottawa (1993).

26. Khanna, S. and Fang, S.C. Metabolism of C-14 labeled 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in rats. J. Agric. Food Chem., 14: 500 (1966).

27. Pelletier, O., Ritter, L., Caron, J. and Somers, D. Pharmacokinetics of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid dimethylamine salt in rats: dermal versus oral exposure. Agro (Am. Chem. Soc.), abstr. 79 (1988).

28. Sauerhoff, M.W., Braun, W.H., Blau, G.E. and Gehring, P.J. The fate of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) following oral administration to man. Toxicology, 8: 3 (1977).

29. Food and Agriculture Organization/World Health Organization. Pesticide residues in food; report of the 1970 Joint Meeting of the FAO Working Party of Experts on Pesticide Residues and the WHO Expert Group on Pesticide Residues. FAO Agricultural Studies No. 87; World Health Organization Technical Report Series No. 474 (1971).

30. Frank, R., Campbell, R.A. and Sirons, G.J. Forestry workers involved in aerial application of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D): exposure and urinary excretion. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 14: 427 (1985).

31. Moody, R.P., Franklin, C.A., Ritter, L. and Maibach, H.I. Dermal absorption of the phenoxy herbicides 2,4-D, 2,4-D amine, 2,4-D isooctyl, and 2,4,5-T in rabbits, rats, rhesus monkeys, and humans: a cross-species comparision. J. Toxicol. Environ. Health, 29: 237 (1990).

32. Moody, R.P., Wester, R.C., Melendres, J.L. and Maibach, H.I. Dermal absorption of the phenoxy herbicide 2,4-D dimethylamine in humans: effect of DEET and anatomic site. J. Toxicol. Environ. Health, 36: 241 (1992).

33. Food and Agriculture Organization/World Health Organization. 1975 evaluations of some pesticide residues in food. WHO Pesticide Residues Series No. 5, World Health Organization, Geneva (1976).

34. Elo, H.A. and Ylitalo, P. Distribution of 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in male rats: evidence for the involvement of the central nervous system in their toxicity. Toxicol. Appl. Pharmacol., 51: 439 (1979).

35. Kohli, J.D., Khanna, R.N., Gupta, B.N., Dhar, M.M., Tandon, J.S. and Sircar, K.P. Excretion of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in man. Xenobiotica, 4(2): 97 (1974).

36. Knopp, D. and Glass, S. Biological monitoring of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid-exposed workers in agriculture and forestry. Int. Arch. Occup. Environ. Health, 63(5): 329 (1991).

37. Gorzinski, S.J., Kociba, R.J., Campbell, R.A., Smith, F.A., Nolan, R.J. and Eisenbrandt, D.L. Acute, pharmacokinetic, and subchronic toxicological studies of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. Fundam. Appl. Toxicol., 9: 423 (1987).

38. Vineis, P. and Zahm, S.H. Immunosuppressive effects of dioxin in the development of Kaposi's sarcoma and non-Hodgkin's lymphoma. Lancet, i: 55 (1988).

39. Hardell, L. and Sandstrom, A. Case–control study: soft tissue sarcomas and exposure to phenoxyacetic acids or chlorophenols. Br. J. Cancer, 39: 711 (1979).

40. Hardell, L., Eriksson, M., Lenner, P. and Lundgren, E. Malignant lymphoma and exposure to chemicals, especially organic solvents, chlorophenols and phenoxy acids: a case–control study. Br. J. Cancer, 43: 169 (1981).

41. Eriksson, M., Hardell, L., Berg, N.O., Moller, T. and Akelson, O. Soft-tissue sarcomas and exposure to chemical substances: a case–referent study. Br. J. Ind. Med., 38: 27 (1981).

42. International Agency for Research on Cancer. Occupational exposures to chlorophenoxy herbicides. IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risk Chem. Hum., 41: 357 (1986).

43. Hardell, L. and Eriksson, M. The association between soft tissue sarcomas and exposure to phenoxyacetic acids, a new case–referent study. Cancer, 62: 652 (1988).

44. Eriksson, M., Hardell, L. and Adami, H.-O. Exposure to dioxins as a risk factor for soft tissue sarcoma: a population-based case–control study. J. Natl. Cancer Inst., 82: 486 (1990).

45. Smith, A.H., Pearce, N.E., Fisher, D.O., Giles, H.J., Teague, C.A. and Howard, J.K. Soft tissue sarcoma and exposure to phenoxyherbicides and chlorophenols in New Zealand. J. Natl. Cancer Inst., 75(5): 1111 (1984).

46. Smith, A.H. and Pearce, N.E. Update on soft tissue sarcoma and phenoxyherbicides in New Zealand. Chemosphere 15(9–12): 1795 (1986).

47. Vineis, P., Terracini, B., Ciccone, G., Cignetti, A., Colombo, E., Donna, A., Maffi, L., Pisa, R., Ricci, P., Zanini, E. and Comba, P. Phenoxy herbicides and soft-tissue sarcomas in female rice weeders. A population-based case–referent study. Scand. J. Work Environ. Health, 13: 9 (1986).

48. Hoar, S.K., Blair, A., Holmes, F.F., Boysen, C.D., Robel, R.J., Hoover, R. and Fraumeni, J.F. Agricultural herbicide use and risk of lymphoma and soft-tissue sarcoma. J. Am. Med. Assoc., 256(9): 1141 (1986).

49. Woods, J.S., Polissar, L., Severson, R.K., Heuser, L.S. and Kulander, B.G. Soft tissue sarcoma and non-Hodgkin's lymphoma in relation to phenoxy herbicide and chlorinated phenol exposure in Western Washington State. J. Natl. Cancer Inst., 78: 899 (1987).

50. Bond, G.G., Wetterstroem, N.H., Roush, G.J., McLaren, E.A., Lipps, R.E. and Cook, R.R. Cause specific mortality among employees engaged in the manufacture, formulation, or packaging of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and related salts. Br. J. Ind. Med., 45: 98 (1988).

51. Lynge, E. A follow-up study of cancer incidence among workers in manufacture of phenoxy herbicides in Denmark. Br. J. Cancer, 52: 259 (1985).

52. Wiklund, K., Dich, J. and Holm, L.-E. Risk of malignant lymphoma in Swedish pesticide appliers. Br. J. Cancer, 56: 505 (1987).

53. Wiklund, K., Dich, J. and Holm, L.-E. Risk of soft tissue sarcoma, Hodgkin's disease and non-Hodgkin lymphoma among Swedish licensed pesticide applicators. Chemosphere, 18(1–6): 395 (1989).

54. Coggon, D., Pannett, B. and Winter, P. Mortality and incidence of cancer at four factories making phenoxy herbicides. Br. J. Ind. Med., 48: 173 (1991).

55. Saracci, R., Kogevinas, M., Bertazzi, P.-A., Bueno de Mesquita, B.H., Coggon, D., Green, L.M., Kauppinen, T., L'Abbe, K.A., Littorin, M., Lynge, E., Mathews, J.D., Neuberger, M., Osman, J., Pearce, N. and Winkelmann, R. Cancer mortality in workers exposed to chlorophenoxy herbicides and chlorophenols. Lancet, 338(8774): 1027 (1991).

56. Hardell, L. Relation of soft-tissue sarcoma, malignant lymphoma and colon cancer to phenoxy acids, chlorophenols and other agents. Scand. J. Work Environ. Health, 7: 119 (1981).

57. Zahm, S.K. (Hoar), Weisenburger, D.D., Babbitt, P.A., Saal, R.C., Vaught, J.B., Cantor, K.P. and Blair, A. A case–control study of non-Hodgkin's lymphoma and the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in eastern Nebraska. Epidemiology, 1: 349 (1990).

58. Zahm, S.K. (Hoar), Weisenburger, D.D., Babbitt, P.A., Saal, R.C., Cantor, K.P. and Blair, A. A case–control study of non-Hodgkin's lymphoma and agricultural factors in eastern Nebraska. Am. J. Epidemiol., 128(4): 901 (1988).

59. Pearce, N.E., Smith, A.H., Howard, J.K., Sheppard, R.A., Giles, H.J. and Teague, C.A. Non-Hodgkin's lymphoma and exposure to phenoxy herbicides, chlorophenols, fencing work and meat works employment: a case–control study. Br. J. Ind. Med., 43: 75 (1986).

60. Pearce, N.E., Sheppard, R.A., Smith, A.H. and Teague, C.A. Non-Hodgkin's lymphoma and farming: an expanded case–control study. Int. J. Cancer, 39: 155 (1987).

61. Vineis, P., Faggiano, F., Tedeschi, M. and Ciccone, G. Incidence rates of lymphomas and soft-tissue sarcomas and environmental measurements of phenoxy herbicides. J. Natl. Cancer Inst., 83: 362 (1991).

62. Wigle, D.T., Semenciw, R.M. and Wilkins, K. Mortality study of Canadian male farm operators: non-Hodgkin's lymphoma mortality and agricultural practices in Saskatchewan. J. Natl. Cancer Inst., 82: 575 (1990).

63. International Agency for Research on Cancer. Overall evaluation of carcinogenicity: an updating of IARC monographs Volumes 1 to 42. IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risk Chem. Hum., Suppl. 7: 156 (1987).

64. Blair, A., Malker, H., Cantor, K.P., Burmeister, L. and Wiklund, K. Cancer among farmers: a review. Scand. J. Work Environ. Health, 11: 397 (1985).

65. Newcombe, D.S. Hypothesis: immune surveillance, organophosphorus exposure, and lymphomagenesis. Lancet, 339(8792): 539 (1992).

66. Linnainmaa, K. Sister chromatid exchanges among workers occupationally exposed to phenoxy acid herbicides 2,4-D and MCPA. Teratogen. Carcinogen. Mutagen., 3: 269 (1983).

67. Mustonen, R., Kangas, J., Vuojolahti, P. and Linnainmaa, K. Effect of phenoxyacetic acids on the induction of chromosome aberrations *in vitro* and *in vivo*. Mutagenesis, 1: 241 (1986).

68. Vaino, H., Linnainmaa, K., Kahonen, M., Nickels, J., Hietanen, E., Marniemi, J. and Peltonen, P. Hypolipidemia and peroxisome proliferation by phenoxy acetic acid herbicides in rats. Biochem. Pharmacol., 32: 2775 (1983).

69. Reddy, J.K. and Azarnoff, D.L. Hypolipidemic hepatic proliferators form a novel class of chemical carcinogens. Nature, 283: 397 (1980).

70. Linnainmaa, K. Induction of sister chromatid exchanges by the peroxisome proliferators 2,4-D, MCPA, and clofibrate *in vivo* and *in vitro*. Carcinogenesis, 5: 703 (1984).

71. Abdellatif, A.G., Preat, V., Vamecq, J., Nilsson, R. and Roberfroid, M. Peroxisome proliferation and modulation of rat liver carcinogenesis by 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid, perfluorooctanoic acid and nafenopin. Carcinogenesis, 11: 1899 (1990).

72. Industry Task Force on 2,4-D Research Data. Combined toxicity and oncogenicity study in rats — 2,4-dichlorophenoxy acetic acid. Project No. 2184-103, Hazleton Laboratories America, Inc. (1986).

73. Industry Task Force on 2,4-D Research Data. Summary of preliminary pathology report — oncogenicity study in mice with 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. Project No. 2184-105, Hazleton Laboratories America, Inc. (1986).

74. International Agency for Research on Cancer. Some fumigants, the herbicides 2,4-D and 2,4,5-T, chlorinated dibenzodioxins and miscellaneous industrial chemicals. IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risk Chem. Man, 15: 111 (1977).

75. International Agency for Research on Cancer. Chemicals, industrial processes and industries associated with cancer in humans. IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risk Chem. Hum., Suppl. 4: 101 (1982).

76. Hayes, H.M., Tarone, R.E., Cantor, K.P., Jessen, C.R., McCurnin, D.M. and Richardson, R.C. Case-control study of canine malignant lymphoma: positive association with dog owner's use of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid herbicides. J. Natl. Cancer Inst., 83: 1226 (1991).

77. International Agency for Research on Cancer. Genetic and related effects: an updating of selected IARC Monographs from Volumes 1 to 42. IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risk Chem. Hum., Suppl. 6: 233 (1987).

78. Zetterberg, G., Busk, L., Elovson, I., Starec-Nordenhammar, I. and Ryttman, H. The influence of pH on the effects of 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid Na salt) on *Saccharomyces cerevisiae* and *Salmonella typhimurium*. Mutat. Res., 91: 215 (1977).

79. Probst, G.S., McMahon, R.E., Hill, L.E., Thompson, C.Z., Epp, J.K. and Neal, S.B. Chemically-induced unscheduled DNA synthesis in primary rat hepatocyte cultures: a comparison with bacterial mutagenicity using 218 compounds. Environ. Mutagen., 3: 11 (1981).

80. Simmon, V.F. *In vitro* microbiological mutagenicity and unscheduled DNA synthesis of eighteen pesticides. No. 600/1-19-041, U.S. Environmental Protection Agency (1979). Cited in Munroe, I. Expert panel report on carcinogenicity of 2,4-D. Canadian Centre for Toxicology, Guelph (1987).

81. Ahmed, F.E., Hart, R.W. and Lewis, N.J. Pesticide induced DNA damage and its repair in cultured human cells. Mutat. Res., 42: 161 (1977).

82. Korte, C. and Jalal, S.M. 2,4-D induced clastogenicity and elevated rates of sister chromatid exchanges in cultured human lymphocytes. J. Hered., 73: 224 (1982).

83. Lamb, J.C., Marks, T.A., Gladen, B.C., Allen, J.W. and Moore, J.A. Male fertility, sister chromatid exchange, and germ cell toxicity following exposure to mixtures of chlorinated phenoxy acids containing 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. J. Toxicol. Environ. Health, 8: 825 (1981).

84. Mustonen, R., Elovaara, E., Zitting, A., Linnainmaa, K. and Vaino, H. Effects of commercial chlorophenolate, 2,3,7,8-TCDD, and pure phenoxyacetic acids on hepatic peroxisome proliferation, xenobiotic metabolism and sister chromatid exchange in the rat. Arch. Toxicol., 63: 203 (1989).

85. Adhikari, N. and Grover, I.S. Genotoxic effects of some systemic pesticides: *in vivo* chromosomal aberrations in bone marrow cells in rats. Environ. Mol. Mutagen., 12: 235 (1988).

86. Hansen, W.H., Quaife, M., Habermann, R.T. and Fitzhugh, O.G. Chronic toxicity of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in rats and dogs. Toxicol. Appl. Pharmacol., 20: 122 (1971).

87. U.S. Environmental Protection Agency. Health advisory — 2,4-D. Rev. Environ. Contam. Toxicol., 104: 63 (1988).

88. Schwetz, B.A., Sparschu, G.L. and Gehring, P.J. The effect of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and esters of 2,4-D on rat embryonal, foetal and neonatal growth and development. Food Cosmet. Toxicol., 9: 801 (1971).

89. Schillinger, J.I. Hygienische Wertung von landwirtschaftlichen Erzeugnissen, angebaut unter Anwndung von Herbiziden. J. Hyg. Epidemiol. (Praha), 4: 243 (1960), cited in reference 70.

90. Bjorklund, N.-E. and Erne, K. Toxicological studies of phenoxyacetic herbicides in animals. Acta Vet. Scand., 7: 364 (1966).

91. Collins, T.F. and Williams, C.H. Teratogenic studies with 2,4,5-T and 2,4-D in the hamster. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 6: 559 (1971).

92. Khera, K.S. and McKinley, W.P. Pre- and postnatal studies on 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and their derivatives in rats. Toxicol. Appl. Pharmacol., 22: 14 (1972).

93. Unger, T.M., Kliethermes, J., Van Goeham, D. and Short, R.D. Teratology and postnatal studies in rats on propylene glycol butyl ether and isooctyl esters of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. Report No. 60/12-80, U.S. Environmental Protection Agency (1980), cited in reference 4.

94. Courtney, K.D. Prenatal effects of herbicides: evaluation by the prenatal development index. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 6: 33 (1977).

Octobre 1991
(révisé en novembre 1993)

L'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique

Recommandation

La concentration maximale acceptable provisoire (CMAP) de l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique dans l'eau potable est de 0,1 mg/L (100 µg/L).

Propriétés physico-chimiques, utilisations et sources de contamination

L'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique, appelé couramment 2,4-D, est un herbicide systémique de type chlorophénoxy largement utilisé au Canada (plus de quatre millions de kilogrammes par année)[1] pour détruire les mauvaises herbes latifoliées dans les cultures céréalières et sur les terrains industriels, les pelouses, le gazon, les pâturages et les terres non cultivées. Il sert aussi à détruire les mauvaises herbes aquatiques. Le 2,4-D est commercialisé sous forme de préparations de sels alcalins, de sels d'amine et d'esters.

Le 2,4-D présente une masse moléculaire de 221,0; sa formule brute est $C_8H_6O_3Cl_2$. Il est soluble dans les solvants organiques. La solubilité signalée pour l'acide libre dans l'eau varie considérablement et on donne une valeur de 0,09 % ou 900 mg/L à 25 °C.[2] Dans une étude de la documentation relative à la solubilité du 2,4-D, Que Hee et Sutherland[3] ont choisi la valeur de 522 mg/L qu'ils jugeaient la plus fiable. Le sel de diméthylamine est très soluble (300 %), alors que ses esters sont insolubles dans l'eau, mais solubles dans les solvants organiques.[2] Le 2,4-D présente une pression de vapeur de $1,05 \times 10^{-2}$ mm Hg à 25 °C.[3] La pression de vapeur des divers esters est plus faible : elle varie de $1,1 \times 10^{-3}$ mm Hg pour l'ester d'éthyle à 2×10^{-6} mm Hg pour l'ester d'isooctyle.[2]

Le procédé de fabrication peut donner lieu à la présence d'impuretés dans le produit technique. Ces impuretés sont entre autres les suivantes : acide 2,6-dichlorophénoxyacétique, les acides 2- et 4-chlorophénoxyacétiques, l'acide bis-(2,4-dichlorophénoxy) acétique et le 2,4-dichlorophénol. Au cours des années 1960, on a mis en évidence une contamination par les dibenzodioxines et les furanes polychlorés, mais le congénère le plus toxique, le 2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-p-dioxine (TCDD), n'a pas été décelé.[4] Des changements dans les méthodes de fabrication et dans la réglementation limitent maintenant la contamination par les dioxines à moins de 0,1 ppm.

Le 2,4-D peut s'introduire dans l'environnement par l'intermédiaire des effluents et lors de déversements liés à sa fabrication et à son transport, ainsi que directement, au moment de son utilisation comme agent servant à détruire les mauvaises herbes. Les esters de 2,4-D sont facilement hydrolysés en acide libre, lequel, à son tour, est rapidement décomposé dans le sol, dans de nombreuses conditions environnementales. Le 2,4-D est surtout éliminé de l'environnement par biodégradation suivant plusieurs mécanismes possibles dont le 2,4-dichlorophénol est un intermédiaire.[5] On signale que la demi-vie du 2,4-D dans le sol varie de quatre à sept jours dans la plupart des types de sol[6–8] et qu'elle atteint six semaines dans les sols acides.[8–10] Parmi les facteurs qui influent sur la vitesse de la biodégradation, on compte la concentration de l'herbicide et la préparation d'herbicide utilisée, le type de sol, la concentration et l'acclimatation des microorganismes, l'humidité, la température, le pH et la teneur en oxygène.[2,11,12] La mesure dans laquelle le 2,4-D sera entraîné par lixiviation jusqu'aux eaux souterraines est inversement proportionnelle à la teneur en matière organique et directement liée au pH du sol.[3] Le 2,4-D a été considéré comme une substance peu sujette à la lixiviation par l'Environmental Protection Agency des États-Unis (EPA),[13] alors qu'il a reçu une cote intermédiaire d'Agriculture Canada.[14]

Des résidus de 2,4-D peuvent être présents dans les eaux de surface à la suite d'un traitement direct, d'un ruissellement ou de la dérive d'un nuage à partir des zones traitées, ou de la lixiviation à partir des eaux souterraines. Cet herbicide est sujet à une biodégradation rapide dans l'eau, mais il peut aussi être en partie photolysé près de la surface. Le principal produit de la décomposition du 2,4-D est le 2,4-dichlorophénol.[15] La persistance du 2,4-D dans les systèmes aquatiques dépend du type d'eau, de la concentration des éléments nutritifs, de la pluie, de la lumière du soleil, de la température, de la population et de l'exposition antérieure des microorganismes ainsi que de la teneur en

oxygène.[3,16] Les demi-vies varient d'une à plusieurs semaines dans des conditions aérobies et elles peuvent dépasser 80 à 120 jours dans des conditions anaérobies.[17] On ne s'attend pas à ce que le 2,4-D s'accumule dans les sédiments de fond ni dans les boues.[3] Le 2,4-D n'est pas sujet à la bioaccumulation dans les organismes aquatiques ou terrestres (sauf dans certaines algues), en raison de sa décomposition rapide.[2]

L'atmosphère peut être contaminée par le 2,4-D par suite de sa volatilisation et de la dérive du nuage pulvérisé. Dans l'atmosphère, les résidus se trouvent principalement sous forme d'esters d'isopropyle et de butyle.[17] Le 2,4-D est éliminé de l'atmosphère par photo-oxydation et par la pluie, sa demi-vie étant inférieure à une journée.[18]

Exposition

On a décelé du 2,4-D dans 52 échantillons d'eau brute ou traitée sur 805 échantillons provenant de réserves municipales et privées au cours d'enquêtes réalisées de 1971 à 1986 dans six provinces canadiennes. La concentration maximale était de 29 µg/L (ppb).[19] Aucun résidu n'a été décelé dans des échantillons d'eau potable soumis à une analyse de routine au cours d'enquêtes sur le panier d'alimentation effectuées aux États-Unis (seuil de détection de 5 µg/L).[4] Sur 447 échantillons d'eaux de surface analysés entre 1981 et 1985 et provenant de trois zones agricoles canadiennes, 78 présentaient des concentrations décelables de 2,4-D; dans ces régions, les concentrations moyennes annuelles décelables de l'herbicide variaient de 0,01 à 0,7 µg/L.[20] On a décelé du 2,4-D dans 38,5 % des 1 386 échantillons d'eau de surface provenant des Prairies canadiennes et testés entre 1971 et 1977 (seuil de détection de 0,004 µg/L); les concentrations moyennes étaient inférieures à 0,3 µg/L.[21]

Bien que le 2,4-D soit peu sujet à la bioaccumulation, les humains peuvent être exposés à cet herbicide lorsqu'il est présent sous forme de résidus dans des produits alimentaires agricoles. D'après les limites maximales fixées pour les résidus de pesticides par la Direction générale des aliments, l'apport quotidien maximal théorique de 2,4-D dans les aliments s'élèverait en moyenne à 0,87 µg/kg p.c. pour un adulte pesant 60 kg. L'apport de 2,4-D mesuré dans une étude de l'alimentation totale effectuée aux États-Unis pour 1987 était de 0,0001 µg/kg p.c. par jour pour une femme de 60 à 65 ans et de moins de 0,0001 µg/kg p.c. par jour pour des enfants de six à 11 mois et pour des garçons de 14 à 16 ans.[22] Ces valeurs sont de trois à quatre ordres de grandeur plus faibles que l'apport théorique. Aucun résidu d'ester de 2,4-D n'a été décelé dans une étude de l'alimentation totale réalisée au Canada de 1976 à 1978 (concentration minimale décelable de 500 ppb).[23]

Dans des enquêtes portant sur les concentrations de 2,4-D dans l'air ambiant des Prairies, où l'herbicide était très utilisé, 30 % des échantillons analysés de 1966 à 1975 contenaient moins de 0,01 µg/m^3; 40 % des échantillons présentaient une concentration se situant entre 0,01 et 0,099 µg/m^3; 20 % des échantillons présentaient une concentration comprise entre 0,1 et 1 µg/m^3; et 10 % d'entre eux présentaient une concentration supérieure à 1 µg/m^3.[24] Il est difficile d'estimer l'apport moyen de 2,4-D atmosphérique, mais cet apport est extrêmement faible.

Méthodes d'analyse et techniques de traitement

Les résidus de 2,4-D et de ses sels ou de ses esters dans l'eau sont couramment mesurés par extraction, formation de dérivés chimiques, séparation par chromatographie gaz-liquide et détection par capture d'électrons. Cette méthode permet de déceler des concentrations de l'ordre du picogramme.[4] La détection par conductivité électrolytique est aussi employée, avec une limite de détection de 0,1 µg/L.[20] Parmi les autres méthodes employées pour le dosage des résidus de 2,4-D, on compte la chromatographie liquide haute performance et la chromatographie sur couche mince.[3]

Les méthodes courantes de traitement de l'eau ne permettent pas d'éliminer efficacement le 2,4-D de l'eau. L'adsorption sur charbon actif, en poudre ou sous forme de granules, est la méthode privilégiée pour débarrasser du 2,4-D les réserves d'eau potable. On a constaté que le charbon actif en poudre éliminait 90 % d'une dose initiale de 1,0 mg/L.[25] On ne dispose d'aucune information sur l'efficacité de ce traitement à des concentrations plus faibles de 2,4-D.

Effets sur la santé

Métabolisme

Le 2,4-D, administré par voie orale sous forme d'acide libre, de sel de sodium ou de sel d'amine, est absorbé rapidement et presque complètement chez les rats, les veaux, les porcs et les volontaires humains.[26-28] La demi-vie moyenne pour l'absorption chez les humains est de quatre heures.[28] L'absorption est beaucoup plus lente et moins complète dans le cas des esters de 2,4-D, qui sont probablement hydrolysés en acide libre avant absorption.[29] Chez les humains, l'absorption de l'acide était faible par voie cutanée.[30] L'absorption cutanée de l'acide 2,4-D variait de 6 % sur l'avant-bras humain jusqu'à 36 % sur le dos d'un lapin. L'absorption par voie cutanée du sel d'isooctyle de 2,4-D était aussi de 6 % chez les humains, mais elle atteignait 50 et 56 % chez les lapins et les singes.

respectivement. Inversement, l'absorption par voie cutanée du 2,4-D sous forme d'amine en solution aqueuse était de 58 % chez les humains et de 12 et 20 % chez les lapins et les rats. On a noté de larges variations de l'absorption cutanée selon l'endroit du corps traité et selon le véhicule du soluté.[31,32]

Chez les rats, après absorption par voie orale, l'acide 2,4-D était réparti dans l'ensemble du corps, la concentration dans le sang atteignant un maximum après trois heures[33] et, dans les reins, le foie, la rate et les poumons, après six heures.[29] Après l'administration de faibles doses, les concentrations tissulaires dans le cerveau semblaient être plus faibles que dans les reins, le foie, le sang et les poumons chez les rats,[26] les porcs[29] et les humains.[17] L'administration de doses élevées (250 mg/kg p.c.) a donné lieu à une accumulation accrue dans le cerveau des rats.[34]

Chez des hommes volontaires à qui on avait administré par voie orale une dose de 5 mg/kg p.c., l'élimination du 2,4-D était assez rapide, la demi-vie pour la clairance du plasma étant de 11,6 heures et la demi-vie de l'élimination, de 17,7 heures. Une proportion de 82 % a été éliminée sous forme inchangée dans l'urine et 13 % ont été excrétés sous forme de conjugué.[28] Des résultats analogues ont été obtenus au cours d'une autre étude effectuée avec six hommes volontaires chez qui la concentration la plus élevée dans le plasma était atteinte en l'espace de 7 à 24 heures, la demi-vie de la clairance du plasma étant de 33 heures.[35] Une proportion de 75 % était excrétée sous forme inchangée dans l'urine après 96 heures, ce taux étant légèrement plus faible que dans l'étude antérieure.[28] On a noté une variation considérable de la pharmacocinétique d'un individu à l'autre; on a signalé une demi-vie de 12 à 22 heures pour la clairance urinaire après une exposition par inhalation en milieu de travail.[36]

Chez des rats, le 2,4-D (25 mg/kg p.c.) administré par voie orale était excrété en grande partie sous forme inchangée, principalement dans l'urine. La clairance était saturable aux doses supérieures à 50 mg/kg p.c.[37] Les faibles doses étaient rapidement excrétées; chez les rats, la majeure partie de la dose administrée était éliminée en 24 heures[26] et jusqu'à 99 % d'une faible dose marquée étaient éliminés en 48 heures. Un plus faible pourcentage des doses supérieures à 50 mg/kg p.c. était éliminé en 11 jours.[26] Le sel de diméthylamine du 2,4-D était aussi rapidement absorbé et excrété après avoir été administré par gavage à des rats, la concentration maximale étant atteinte dans le sang après 20 minutes et l'excrétion atteignant 88 % en l'espace de six heures.[27]

Effets sur la santé des humains

On a signalé des symptômes d'exposition aiguë à des doses élevées de 2,4-D résultant d'empoisonnements dus à une ingestion accidentelle et à une exposition pendant la fabrication ou l'utilisation du produit, habituellement à la suite d'expositions élevées par voie cutanée et par inhalation. Parmi les symptômes signalés, on compte des effets sur les voies gastro-intestinales comme des nausées, des vomissements et de la diarrhée, des effets myotoxiques directs comme une faiblesse musculaire, une raideur, des spasmes musculaires et une paralysie partielle, des effets sur les reins, un œdème pulmonaire et des effets sur les systèmes nerveux central et périphérique.[4]

La plupart des études épidémiologiques portant sur le 2,4-D réalisées jusqu'à présent ont porté sur des expositions multiples à divers herbicides chlorophénoxy, particulièrement à l'acide 2,4,5-trichlorophénoxyacétique (2,4,5-T) et à d'autres agents chimiques, notamment à d'autres pesticides et d'autres composés organiques synthétiques. Jusqu'à récemment, la plupart des études portaient sur des populations exposées pendant les années 1950 et 1960, époque à laquelle les herbicides chlorophénoxy à base de trichlorophénol 2,4,5-T et silvex étaient contaminés par des dioxines et des furanes polychlorés, notamment par les TCDD, qui jouent un rôle dans l'induction de sarcomes des tissus mous.[38] On pense que les herbicides qui ne sont pas à base de trichlorophénol sont beaucoup moins contaminés par les dioxines les plus toxiques et, d'après ce qu'on sait, ils ne contiennent pas de TCDD.[4]

Au cours d'une série d'études de cas-témoins représentatifs réalisées en Suède vers la fin des années 1970 et au début des années 1980, on a constaté une étroite relation, avec des risques relatifs de l'ordre de 5 à 7, entre les sarcomes des tissus mous et les lymphomes multiples, notamment la maladie de Hodgkin et le lymphome non hodgkinien, et l'utilisation d'herbicides chlorophénoxy (dont le 2,4,5-T) chez des personnes travaillant en agriculture ou en foresterie.[39–42] Les études suédoises ont permis de concentrer l'attention sur les sarcomes des tissus mous, sur les lymphomes non hodgkiniens et sur la maladie de Hodgkin en tant que points finaux d'intérêt dans les études de cas-témoins et les études de cohortes successives.

Sarcomes des tissus mous

Dans une étude basée sur un registre (55 cas) visant à tester la reproductibilité de résultats obtenus antérieurement pour les sarcomes des tissus mous, Hardell et Eriksson[43] ont noté que le risque de sarcome des tissus mous était trois fois plus élevé (conclusion basée sur neuf cas), soit environ la moitié du risque mesuré lors de l'étude antérieure,[39] chez les personnes exposées à des herbicides (y compris le 2,4,5-T),

comparativement à des témoins représentatifs. Cet accroissement du risque relatif diminuait de moitié *(signification limite, p = 0,09) lorsque la comparaison* était faite avec des témoins atteints de cancer; dans cette étude, les erreurs de mémoire de la part des patients atteints de cancer peuvent avoir joué un rôle dans l'augmentation observée du risque. Dans une étude de cas-témoins représentatifs réalisée dans le centre de la Suède avec 237 cas de sarcomes des tissus mous, l'exposition à des acides phénoxyacétiques (y compris au 2,4,5-T) n'a pas donné lieu à une augmentation significative du risque (risque relatif, 1,34; intervalle de confiance (IC), 0,70 à 2,56). Sur les 23 cas et les 18 témoins qui avaient été exposés, seulement quatre cas et sept témoins avaient été exposés à des acides phénoxyacétiques autres que le 2,4,5-T (on a supposé l'absence de contamination par les TCDD). Le risque relatif n'était pas important pour ce groupe en raison du nombre restreint d'individus qu'il contenait.[44]

D'autres études de cas-témoins sur le sarcome des tissus mous réalisées en Nouvelle-Zélande,[45,46] en Italie[47] et aux États-Unis (Kansas[48] et Washington[49]) n'ont pas confirmé la relation entre le sarcome des tissus mous et l'utilisation de chlorophénoxy mise en évidence dans les études suédoises originales. L'étude réalisée au Kansas[48] consistait à exposer les sujets à un certain nombre d'herbicides, dont le 2,4-D, mais peu à d'autres herbicides chlorophénoxy, alors que les sujets des trois autres études avaient été exposés à plusieurs herbicides chlorophénoxy, particulièrement au 2,4,5-T.

Les résultats se sont révélés négatifs dans plusieurs études de cohortes portant sur les sarcomes des tissus mous chez des travailleurs participant à la fabrication des herbicides chlorophénoxy et chez des groupes exposés en milieu de travail qui avaient beaucoup utilisé ces herbicides.[50–54] Aucune cohorte n'a été exposée uniquement ou principalement au 2,4-D, y compris la «cohorte 2,4-D» constituée de 878 travailleurs participant à la fabrication du 2,4-D dans les installations de Dow aux États-Unis, dont 75 p. cent avaient également été exposés au 2,4,5-T.[50] En raison de la faible taille de la plupart des cohortes, il n'est pas possible de faire pleine confiance aux résultats, qu'ils soient positifs ou négatifs. Au cours d'une étude de cohorte rétrospective internationale, financée par le CIRC (Centre international de recherche sur le cancer), parmi 18 390 travailleurs effectuant la production ou la pulvérisation appartenant à 20 cohortes dans 10 pays, on a noté un accroissement du risque non statistiquement significatif du double pour la mortalité due à un sarcome des tissus mous. Pour les personnes exposées pour la première fois 10 à 19 ans avant leur mort, cet accroissement était d'un facteur de six; cependant, les résultats n'étaient basés que sur quatre cas de mortalité observés. Trois autres sujets étaient encore en vie et deux sujets ont été mal classés (omission), bien qu'ils soient probablement morts de sarcome des tissus mous d'après les auteurs. Au cours de cette étude, on a cherché dans une certaine mesure à séparer les travailleurs ayant peut-être été exposés à des TCDD (n = 11 445, travailleurs exposés au 2,4,5-T ou au 2,4,5-trichlorophénol) de ceux qui ne l'ont pas été (n = 6 845). Le risque était le même pour ces deux groupes.[55]

Lymphomes non hodgkiniens

Dans une étude de cas-témoins représentatifs réalisée en Suède sur des lymphomes malins et analogue aux études du sarcome des tissus mous, le risque relatif combiné de maladie de Hodgkin et de lymphome non hodgkinien était de 4,8 (IC, 2,9 à 8,1), mais il passait à 7,0 pour une exposition totale de plus de 90 jours au cours d'une vie à un mélange d'herbicides chlorophénoxy.[40,56] La relation entre l'exposition au chlorophénoxy et le lymphome non hodgkinien a été étudiée dans quatre autres études de cas-témoins en Nouvelle-Zélande et aux États-Unis; toutes ces études ont été réalisées de la même façon que les études suédoises, mais une seule d'entre elles portait spécifiquement sur le 2,4-D,[57,58] bien qu'une étude antérieure par le même groupe ait conclu que l'herbicide chlorophénoxy le plus utilisé était le 2,4-D.[48] Le risque de lymphome non hodgkinien n'était pas particulièrement élevé pour les agriculteurs de Nouvelle-Zélande ni pour aucune des personnes chargées de pulvériser les pesticides, surtout du 2,4-D et du 2,4,5-T.[59,60] Dans cette étude, la caractérisation de l'exposition ne semblait pas très bonne, ce qui a pu entraîner des erreurs de classification qui auraient à leur tour pu empêcher de déceler des différences de risque. Les trois études restantes donnaient toutes à penser qu'il existe un faible lien entre le lymphome non hodgkinien et l'utilisation des herbicides chlorophénoxy (mais pas du 2,4-D en particulier, sauf dans une étude réalisée au Nebraska). D'autres produits chimiques également employés en agriculture ont pu agir comme covariants. Dans le cadre d'une importante étude réalisée dans l'État de Washington avec 576 cas de lymphome non hodgkinien, le risque relatif est passé de 1,1 (IC, 0,8 à 1,4; non significatif) chez les sujets qui avaient des antécédents d'exposition à des herbicides chlorophénoxy en milieu de travail, surtout au 2,4-D et au 2,4,5-T, à 1,7 (IC, 1,0 à 2,8; significatif à la limite) chez des personnes exposées en milieu de travail à des herbicides chlorophénoxy pendant au moins 15 ans, avec une période de latence minimale de 15 ans.[49]

Dans une étude de cas-témoins réalisée au Kansas (200 cas), l'utilisation de l'herbicide dans les exploitations agricoles a été accessoirement mise en relation avec le lymphome non hodgkinien, avec un risque relatif de 1,4 (IC, 0,9 à 2,6; non significatif), mais ce risque

relatif passait à 2,2 (IC, 1,2 à 4,1; significatif) dans le cas des agriculteurs qui avaient utilisé des herbicides de type chlorophénoxy à un moment quelconque (il s'agissait presque exclusivement du 2,4-D) et à 6,0 (IC, 1,9 à 19,5; significatif) pour ceux qui avaient utilisé des herbicides non spécifiés plus de 20 jours par an. La tendance vers une augmentation du risque proportionnelle au nombre de jours d'utilisation par année était hautement significative (p = 0,000 4).[48] Au cours d'une deuxième étude effectuée au Nebraska par le même groupe, l'analyse a été concentrée sur l'exposition au 2,4-D. Le risque relatif a été réduit jusqu'à environ la moitié du risque observé dans l'étude effectuée au Kansas pour ceux qui effectuaient le mélange ou l'épandage du 2,4-D et il n'était significatif qu'après correction des données pour tenir compte de l'utilisation des organophosphates. Pour ceux qui utilisaient le 2,4-D plus de 21 jours par an, le risque relatif de 3 n'était pas significatif, mais la tendance vers un risque accru avec l'augmentation du nombre annuel de jours d'utilisation était très légèrement significative (p = 0,051). Il n'y avait pas de tendance apparente vers un risque accru lorsque le nombre d'années d'exposition augmentait. Le risque était hautement significatif pour ceux qui ne prenaient pas de précautions pour réduire l'exposition en changeant de vêtements peu de temps après l'exposition ou en se lavant immédiatement après avoir manipulé le pesticide. Il n'y a pas eu d'augmentation du risque relatif chez ceux qui n'avaient pas utilisé l'équipement de protection.[57,58] Ces résultats concordent, pour la plupart, avec les résultats obtenus antérieurement par le même groupe de recherche au Kansas,[48] mais les estimations du risque étaient plus faibles et non significatives dans certains cas.

Dans le cadre d'une étude effectuée dans une zone agricole du Nord de l'Italie et portant sur l'exposition à un mélange d'herbicides phénoxy, notamment le 2,4-D, le 2,4,5-T et le MCPA, l'incidence du lymphome non hodgkinien (n = 141 cas) est passée de 8,8 par 100 000 pour toute la zone à 18,2 par 100 000 dans la zone la plus exposée (rapport des taux, 2,2; IC, 1,4 à 3,5). L'exposition avait été mesurée pendant deux ans dans l'eau et dans le sol, 10 ans auparavant; les concentrations de 2,4-D dans l'eau atteignaient 70 à 460 µg/L dans la zone la plus contaminée.[61]

On n'a pas mesuré de risque particulièrement élevé de lymphome non hodgkinien dans la plupart des études de cohorte portant sur l'exposition en milieu de travail,[50,51,53,54] bien que les cohortes aient été généralement trop petites pour fournir des indications concluantes et qu'elles aient toutes été exposées à des herbicides chlorophénoxy en plus du 2,4-D. Dans l'étude de cohorte britannique, deux cas de mortalité dus à un lymphome non hodgkinien ont été enregistrés (rapport standardisé de mortalité, 272) plus de 10 ans après la première exposition et un autre sujet était encore en vie.[54] Une étude de cohorte réalisée récemment avec des agriculteurs en Saskatchewan, où l'utilisation du 2,4-D était extensive (il représente 90 % et 75 % en masse de tous les herbicides employés respectivement au cours des années 1960 et 1970), a mis en évidence une tendance à la hausse du risque de lymphome non hodgkinien avec l'utilisation accrue des herbicides, mesurée en fonction du nombre d'acres traités par pulvérisation. En raison de l'exposition simultanée à d'autres agents, il n'a pas été possible de conclure que cet effet était spécifiquement dû au 2,4-D.[62] Dans l'étude du CIRC portant sur 20 cohortes avec 18 390 travailleurs exposés à des herbicides chlorophénoxy, il n'y a pas eu de risque accru de lymphome non hodgkinien (rapport standardisé de mortalité 95), d'après15 cas de mortalité en tout.[55]

Maladie de Hodgkin

À part les indications fournies par les études suédoises originales au cours desquelles la maladie de Hodgkin était regroupée avec le lymphome non hodgkinien, il n'existe pas beaucoup d'indications d'une augmentation du risque de maladie de Hodgkin résultant de l'exposition à des herbicides phénoxy, d'après une étude supplémentaire de cas[48] et d'après cinq études de cohortes.[50,51,53–55]

Parmi les autres effets possibles qui ont été examinés par au moins un chercheur, on compte les myélomes multiples, la leucémie ainsi que les cancers du poumon, de l'estomac et de la prostate. Toutefois, sauf dans le cas du cancer du poumon, dont on sait qu'il présente des étiologies multiples, aucun risque particulier n'a été mis en évidence pour les personnes exposées à des herbicides chlorophénoxy.

Les herbicides chlorophénoxy, qui comprennent le 2,4-D, le 2,4,5-T et le MCPA, ont été classés par le CIRC dans le Groupe IIB (produits pouvant être cancérogènes pour les humains).[63] Toutefois, d'après les études examinées ici, il n'est pas possible de déterminer avec exactitude quel est le pouvoir cancérogène de chaque herbicide chlorophénoxy puisque presque toutes les populations étudiées ont été exposées à un mélange d'herbicides chlorophénoxy. Dans la seule étude au cours de laquelle les sujets étaient uniquement exposés au 2,4-D,[57] la relation de cause à effet s'est révélée faible.

Aucune tendance particulière n'a été mise en évidence après l'analyse des données par comparaison des populations exposées à des mélanges de 2,4,5-T, qui contenaient souvent des TCDD et d'autres dioxines, à des population exposées à des mélanges qui ne contenaient pas de 2,4,5-T ni d'autres produits à base de trichlorophénol. D'après l'étude du CIRC effectuée avec plusieurs cohortes, le risque de sarcome des tissus mous

était légèrement accru, mais cela n'a pu être attribué à l'exposition à des TCDD.

Parmi les trois effets examinés le plus fréquemment, les relations de cause à effet mises en évidence dans la plupart des études étaient faibles, le risque relatif augmentant habituellement de moins du double, sauf dans le cas des premières études effectuées en Suède.[40,56] La relation avec le lymphome non hodgkinien semble plus cohérente que dans le cas du sarcome des tissus mous, dans trois études cas-témoins et dans une d'étude de l'incidence; toutefois, cette relation n'est pas totalement confirmée par six études de cohorte, notamment l'importante étude du CIRC portant sur des travailleurs de production. Il est possible que toute relation décelée soit causée par une exposition simultanée à un autre agent ou à d'autres agents. L'exploitation d'une entreprise agricole et l'exposition à d'autres pesticides et solvants ont aussi été mises en cause dans l'apparition du lymphome non hodgkinien[49,62] et des cancers du système lymphatique.[64,65]

Génotoxicité

Les résultats des études de toxicité à court terme réalisées jusqu'à présent chez les humains se sont largement révélées négatives. Par exemple, des essais d'échange des chromatides sœurs *in vivo* et des essais d'aberration chromosomique réalisés[66] *in vitro* et *in vivo* se sont révélés négatifs chez les humains.[67]

Chez des travailleurs de la foresterie participant à des opérations de pulvérisation avec du 2,4-D et du MCPA, 22 hommes présentaient des concentrations décelables de 2,4-D dans leur urine, variant de 0,24 à 10,02 mg/L. Aucune augmentation importante n'a été mesurée au cours des échanges des chromatides sœurs avant, pendant et après les opérations de pulvérisation. Les dénombrements étaient du même ordre que chez 15 sujets témoins.[66] Des résultats analogues ont été obtenus pour la fréquence des aberrations chromosomiques parmi 15 témoins et 12 travailleurs exposés au 2,4-D et au MCPA, d'après les taux urinaires de 2,4-D.[67] D'autres études réalisées *in vivo* chez des humains ont été examinées, mais les résultats n'ont pu être évalués car les travailleurs avaient été exposés à des mélanges de 2,4-D et d'autres herbicides (qui n'étaient pas de type chlorophénoxy).[42]

Effets sur la santé des animaux de laboratoire

Le 2,4-D présente une légère toxicité aiguë pour les mammifères. La DL_{50} par voie orale de 2,4-D serait de 607 et 726 mg/kg p.c. pour des rats F344 mâles et femelles respectivement, les valeurs obtenues étant à peu près analogues (536 à 754 mg/kg p.c. pour les mâles et 424 à 840 mg/kg p.c. pour les femelles) dans le cas de l'équivalent acide des esters d'isooctyle, d'isobutyle, de butyle et de butoxyéthanol ainsi que pour les sels de sodium et de diméthylamine.[37] Des valeurs analogues ont été obtenues pour la plupart des autres espèces sauf les chiens, pour qui la DL_{50} par voie orale était de 100 mg/kg p.c.[4]

Dans le cadre d'une étude de la toxicité subchronique de 13 semaines, on a administré à des rats Fischer 344 du 2,4-D de qualité technique (pur à 97,5 %) et purifié dans les aliments à raison de 0, 15, 60, 100 et 150 mg/kg p.c. par jour, à des groupes de 15 animaux par sexe, par dose et par composé.[37] Les poids corporels ont diminué d'environ 9 % à la dose la plus élevée chez les deux sexes. À toutes les doses, on a observé une dégénérescence liée à la dose dans les tubules rénaux proximaux descendants des rats mâles et de légères modifications cytoplasmiques dans les tubules rénaux proximaux chez les deux sexes. On a également constaté des augmentations du poids relatif des reins chez les deux sexes dans le cas des doses de 60, 100 et 150 mg/kg p.c. par jour et, chez les mâles, aussi à la dose de 15 mg/kg p.c. par jour. Les poids relatifs du foie étaient accrus chez les animaux ayant reçu les deux doses les plus élevées, cette augmentation s'accompagnant d'un léger gonflement et de changements de la coloration des cellules du foie, jugés non spécifiques et mineurs par les auteurs. Il n'y a pas eu de différence importante des effets toxicologiques dans le cas du 2,4-D purifié et du 2,4-D de qualité technique. Dans cette étude, on n'a pas déterminé de dose sans effet néfaste observé (NOAEL) puisque des effets ont été mis en évidence à la dose la plus faible, soit 15 mg/kg p.c. par jour.

On a montré que le 2,4-D était un agent de prolifération des peroxisomes[68] et que les agents de la prolifération des peroxisomes pouvaient avoir des effets cancérogènes épigénétiques.[69,70] Dans un protocole d'initiation–sélection–promotion pour l'induction des tumeurs du foie, on a testé la capacité de promotion et de modulation de cinq agents de prolifération des peroxisomes, y compris le 2,4-D, dans l'hépatocancérogénèse. On a administré à des rats Wistar mâles (8 à 12 par groupe) une dose unique intrapéritonéale de diéthylnitrosamine servant d'initiateur. Deux semaines plus tard, ces rats ont reçu une dose nécrogène de tétrachlorure de carbone et ils ont été soumis à une procédure de sélection consistant à leur administrer une alimentation contenant du 2-acétylaminofluore pendant une période de deux semaines. Les animaux ont ensuite été répartis en six groupes et ils ont reçu une alimentation de base (témoins) ou une alimentation additionnée de 0,05 % de 2,4-D ou de quatre autres composés, pendant 28 semaines. L'administration de tous les composés sauf le 2,4-D et de l'alimentation témoin a entraîné une augmentation de 16 à 83 % de l'incidence des carcinomes hépatocellulaires (incidence de 16 %

pour le 2,4,5-T). On n'a observé aucune tumeur dans le groupe ayant reçu le 2,4-D ni dans le groupe témoin. On a conclu que la prolifération des peroxisomes n'était pas nécessairement liée à la production de tumeurs dans les condition de cette étude de la toxicité subchronique.[71]

Dans une étude de la toxicité chronique et de l'oncogénicité chez les rats Fischer 344 (60 par sexe par dose), les animaux ont reçu pendant deux ans du 2,4-D dans leur alimentation à des doses équivalant à 0, 1, 5, 15 et 45 mg/kg p.c. par jour. Dix rats par groupe ont été sacrifiés après un an.[72] On n'a décelé aucun effet relié au traitement sur la survie, quel que soit le groupe. Chez les femelles ayant reçu la dose la plus élevée, les poids corporels étaient plus faibles de 9 % que chez les témoins; on a aussi observé une réduction non significative, de 5 %, chez les mâles ayant reçu la dose la plus élevée. La consommation alimentaire était également réduite dans le groupe ayant reçu la dose la plus élevée, chez les deux sexes (comme la réduction du poids corporel était inférieure à 10 %, elle était probablement due à une réduction de la prise de nourriture). Il n'y a pas eu d'effets liés à la dose sur les paramètres cliniques, hématologiques ou biochimiques. Les poids des reins et de la thyroïde/parathyroïde avaient beaucoup augmenté chez les mâles et les femelles à la dose de 45 mg/kg p.c. par jour. À la dose de 15 mg/kg p.c. par jour, des augmentations importantes ont été observées dans le poids des reins chez les mâles seulement et dans les rapports des poids de la thyroïde à la parathyroïde chez les femelles seulement. Aucune anomalie n'a été mise en évidence à l'examen histopathologique de la thyroïde et de la parathyroïde. Toutefois, aux doses de 5, 15 et 45 mg/kg p.c. par jour, on a noté une incidence accrue de pigment brun dans les cellules tubulaires rénales des mâles et des femelles. Chez les femelles, on a également observé une hyperplasie des cellules épithéliales transitionnelles rénales qui ne devenait significative qu'à la dose la plus élevée. Un deuxième examen des coupes a aussi mis en évidence une légère pigmentation chez plusieurs des animaux ayant reçu la dose de 1 mg/kg p.c. par jour. Une fréquence accrue de microcalculs rénaux a été observée chez les mâles aux doses de 15 et 45 mg/kg p.c. par jour et chez les femelles à la dose de 45 mg/kg p.c. par jour. La vacuolisation du cytoplasme du cortex rénal a été notée chez les femelles à la dose de 45 mg/kg p.c. par jour. On a déterminé que le NOAEL pour ce qui est des effets non néoplasiques était de 1 mg/kg p.c. par jour.

Au cours d'une étude de deux ans consistant à administrer à des souris $B6C3F_1$ (60 par sexe par dose) du 2,4-D dans l'alimentation à des doses équivalant à 0, 1, 5, 15 et 45 mg/kg p.c. par jour, la seule indication d'un effet était une augmentation de l'homogénéité cytoplasmique de l'épithélium des tubules rénaux chez les souris mâles à partir de la dose de 5 mg/kg p.c. par jour. Il n'y a eu aucun effet lié au traitement sur la survie, le poids du corps ou des organes, les résultats cliniques, ni d'effet pathologique manifeste. On a déterminé que le NOAEL pour ce qui est des effets non néoplasiques était de 1 mg/kg p.c. par jour.[73]

Le 2,4-D ne présentait pas de cancérogénicité au cours de trois études à long terme réalisées chez des rats et des souris;[74,75] toutefois, ces études ne convenaient pas à l'évaluation de la cancérogénicité.[42,75] Au cours d'épreuves biologiques effectuées récemment chez des souris $B6C3F_1$,[73] on n'a noté aucun effet oncogène quelle que soit la dose; cependant, il est peu probable que la dose maximale tolérée ait été atteinte, ce qui interdit toute évaluation de l'oncogénicité. Au cours de l'épreuve biologique de deux ans portant sur l'oncogénicité réalisée chez des rats Fischer 344,[72] on a noté une augmentation des astrocytomes du cerveau chez les mâles du groupe ayant reçu la dose la plus élevée, soit 45 mg/kg p.c. par jour (6 tumeurs), ainsi qu'une tendance significative, liée à la dose, pour cet effet. Le nombre de tumeurs observées chez les mâles a été de 1, 0, 0, 2 et 6 pour les doses de 0, 1, 5, 15 et 45 mg/kg p.c. par jour, respectivement, avec une incidence de 3,6 % chez le groupe ayant reçu la dose la plus élevée (2,8 % en ne tenant compte que des quatre tumeurs du nombre standard de sections du cerveau). Il n'y avait pas de réduction de la latence des tumeurs; les tumeurs n'ont été observées que chez les mâles; aucun des groupes ne présentait de lésion pré-néoplasique; toutes les tumeurs étaient solitaires; et l'on n'a pas décelé de tendance vers une anaplasie accrue chez les animaux traités. La toxicité systémique notée dans l'étude vient appuyer la conclusion selon laquelle la dose maximale tolérée avait été atteinte (contrairement à ce qu'avait conclu l'EPA des États-Unis). De nouvelles épreuves biologiques ont été instituées pour clarifier la situation du 2,4-D en ce qui concerne sa cancérogénicité pour les animaux.

Comme les chiens sont sujets à des lymphomes canins malins, dont l'étiologie, l'histologie et le comportement sont analogues à ceux des lymphomes non hodgkiniens, une étude de cas-témoins a été effectuée dans des hôpitaux pour chiens par le National Cancer Institute (NCI) des États-Unis, au Minnesota, en Indiana et au Colorado avec 491 cas, 466 témoins dépourvus de tumeur et 479 témoins présentant des tumeurs, afin d'étudier le risque lié à l'utilisation de produits chimiques en milieu d'habitation, notamment à celle du 2,4-D. On a ainsi noté une légère augmentation du risque (risque relatif, 1,3; intervalle de confiance, 1,04 à 1,67) chez les chiens dont les propriétaires avaient utilisé du 2,4-D sur leur pelouse; le risque relatif est passé à plus du double à partir de quatre traitements par année (p pour la tendance <0,02). Une grande diversité de facteurs domestiques ont été pris en

considération comme facteurs de confusion.[76] Ces résultats concordaient avec les résultats obtenus chez les humains.

Les résultats des études de génotoxicité à court terme réalisées jusqu'à présent chez les animaux se sont largement révélés négatifs. Le 2,4-D ne s'est pas révélé mutagène dans un certain nombre d'essais microbiens réalisés avec *Salmonella typhimurium* (souches diverses), *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli*. Ces études ont été passées en revue dans plusieurs publications.[4,63,74,75,77] Des essais de conversion des gènes chez la levure *Saccharomyces cerevisiae* étaient positifs à faible pH, mais pas à un pH neutre.[78] On a obtenu des résultats positifs pour des essais de mutation et d'aberration chromosomique chez des végétaux, peut-être pour des raisons de cytotoxicité.[63,75]

Dans l'ensemble, les résultats obtenus avec des cellules de mammifères se sont révélés négatifs, particulièrement dans le cas des essais *in vivo*. Les essais *in vitro* ont donné des résultats mixtes. Un essai de synthèse d'ADN atypique a donné des résultats négatifs avec des hépatocytes de rat,[79] un essai sur deux portant sur des cellules de fibroblastes humains,[80] l'autre ayant donné des résultats positifs.[81] Des essais d'échange des chromatides sœurs effectués *in vitro* ont donné des résultats négatifs avec des cellules d'ovaires de hamster chinois[70] et des résultats positifs avec des cellules de lymphocytes humains.[82] Les essais d'échange des chromatides sœurs effectués *in vivo* se sont révélés négatifs chez la souris,[83] chez les lymphocytes de rat[70,84] et chez le hamster.[70] Des essais d'aberration chromosomique effectués *in vivo* ont donné des résultats positifs chez le rat à des doses de 35 et 70 mg/kg p.c., mais négatifs à la dose de 17,5 mg/kg p.c. Une relation dose-réponse a été mise en évidence.[85]

La reproduction, mesurée d'après la fécondité et le nombre de petits par portée, n'était pas touchée par des doses de 2,4-D allant jusqu'à 1 500 µg/g d'aliments (soit environ 75 mg/kg p.c.) au cours d'une étude portant sur trois générations de rats. Toutefois, le nombre de petits ayant survécu au sevrage était nettement réduit à 75 mg/kg p.c., mais il n'était pas touché par une dose de 25 mg/kg p.c.[86] Au cours d'une étude de la reproduction portant sur deux générations de rats présentée par le groupe de travail de l'industrie, on n'a mis en évidence aucun effet certain du traitement sur la reproduction. Toutefois, cette étude a été faussée par une infection possible chez certains animaux. On n'a pas déterminé de NOAEL.[87]

Chez les rats à qui on avait administré oralement du 2,4-D du 6^{e} au 15^{e} jour de la gestation, il n'y avait pas d'effet sur la fécondité, sur la gestation, sur la viabilité des petits ni sur la croissance néonatale jusqu'à une dose de 87,5 mg/kg p.c., mais l'administration des esters d'isooctyle ou de l'oxyde de propylèneglycol et de butyle à raison de 75 ou 87,5 mg/kg p.c. s'est traduite par une réduction de la viabilité de la progéniture.[88] On a signalé une spermatogénèse anormale et une réduction du poids des testicules et de la prostate chez des rats à qui on avait administré 87,5 mg d'ester butylique de 2,4-D/kg p.c., mais aucun effet n'a été observé à la dose de 37,5 mg/kg p.c.[89] On a avancé que cette toxicité pouvait être due à l'agent tensio-actif contenu dans la préparation utilisée.[4]

Le 2,4-D administré dans l'eau de boisson des rats à raison de 1 000 mg/L pendant la grossesse et pendant 10 mois de plus par la suite n'a eu aucun effet sur la reproduction et aucune malformation n'a été observée chez les jeunes. Chez les rats de la deuxième génération qui avaient reçu du 2,4-D à raison de 1 000 mg/L dans leur eau de boisson pendant deux ans, on a noté un retard de la croissance et une augmentation de la mortalité.[74,90]

Aucun effet cohérent sur la mortalité, la viabilité ou des anomalies fœtales n'a été observé chez des hamsters à qui on avait administré du 2,4-D de qualité technique (ne présentant pas de contamination décelable par des dioxines) par gavage, à des doses de 0, 20, 40, 60 ou 100 mg/kg p.c., du 6^{e} au 10^{e} jour de la gestation.[91]

L'administration du 2,4-D et de ses esters de butyle, d'isooctyle et de butoxyéthanol à des rats, du 6^{e} au 15^{e} jour de la gestation, a causé une réduction du poids des fœtus et une augmentation de malformations squelettiques mineures de 5 à 10 % chez les témoins, à 50 à 70 % à des doses de 100 mg/kg p.c. ou plus; cet effet a été noté uniquement à la dose de 300 mg/kg p.c. dans le cas du sel de diméthylamine. Aucun effet durable n'a été observé sur la survie, la prise de poids et la capacité de reproduction de la progéniture.[92] On a noté une embryotoxicité et une fœtotoxicité, notamment une réduction du poids corporel des fœtus, des œdèmes sous-cutanés, un retard de l'ossification et des déformations des côtes chez des rats à qui on avait administré du 2,4-D ou ses esters d'isooctyle et d'oxyde de propylène glycol et de butyle à des doses de 50 à 87,5 mg/kg p.c. du 6^{e} au 15^{e} jour de la gestation. On a déterminé que le NOAEL était de 25 mg/kg p.c. Le 2,4-D et ses esters n'étaient pas tératogènes, quelle que soit la dose.[88] À part une augmentation des bourgeons de côtes à la dose de 87,5 mg/kg p.c., causée par les esters de propylène glycol et de butyle et les esters d'isooctyle du 2,4-D, aucun effet n'a été observé au cours d'une expérience répétée avec le même régime de dose.[93]

Chez les souris, on a observé une embryotoxicité et une fœtotoxicité (réduction du poids des fœtus, augmentation de la mortalité des fœtus) à la dose de 1 mmol/kg p.c. par jour (221 mg/kg p.c.) de 2,4-D et de l'ester d'isopropyle et d'isooctyle du 2,4-D. On a observé des effets tératogènes (palais fendu) à des doses

égales ou supérieures à 124 mg/kg p.c. dans le cas du 2,4-D, mais pas dans le cas des esters.[94]

Classification et évaluation

Bien qu'un certain nombre d'études épidémiologiques analytiques aient été réalisées au sujet du 2,4-D et des composés chlorophénoxy apparentés, les indications concernant la cancérogénicité de ces composés ne sont toujours pas concluantes. Ces études portent presque toutes sur des expositions multiples à des mélanges d'herbicides chlorophénoxy, d'autres pesticides et d'autres composés organiques. La plupart des études se sont concentrées sur ces trois effets — les sarcomes des tissus mous, les lymphomes non hodgkiniens et la maladie de Hodgkin. Dans plusieurs études de cas-témoins, on donne à penser qu'il existe une relation de cause à effet entre l'agriculture, l'utilisation des herbicides de type chlorophénoxy et le lymphome non hodgkinien, mais les résultats de ces études ne concordent pas avec les résultats obtenus dans d'autres études, particulièrement les études de cohortes exposées en milieu de travail. La relation avec le sarcome des tissus mous, couramment attribué aux dioxines, est au mieux faible et non cohérente.

L'administration de 2,4-D par voie orale n'a pas entraîné la formation de tumeurs chez les souris mâles ou femelles ni chez les rates dans le cas de deux épreuves biologiques d'exposition chronique. Une légère augmentation liée à la dose des tumeurs du cerveau a été notée chez les rats mâles à la dose la plus élevée. Les résultats sont difficiles à interpréter et on a jugé que les études étaient limitées pour plusieurs raisons. D'après les indications dont on dispose actuellement, le 2,4-D n'est pas génotoxique. Le 2,4-D a donc été classifié dans le Groupe III (produit pouvant être cancérogène pour l'être humain), conformément au plan de classification adopté pour l'eau potable.

Pour les composés classés dans le Groupe III, on calcule l'apport quotidien acceptable (AQA) en divisant un NOAEL par des facteurs d'incertitude. Un AQA provisoire du 2,4-D a été établi d'après sa toxicité pour les rats, de la façon suivante :

$$\text{AQA} = \frac{1 \text{ mg/kg p.c. par jour}}{100} = 0{,}01 \text{ mg/kg p.c. par jour}$$

où :

- 1 mg/kg p.c. par jour est le NOAEL obtenu après une étude de deux ans de la toxicité/oncogénicité par voie alimentaire réalisée chez des rats, au cours de laquelle une pigmentation des cellules tubulaires des reins a été observée à la dose suivante la plus élevée, soit 5 mg/kg p.c.[72]
- 100 est le facteur d'incertitude (×10 pour la variation interspécifique; ×10 pour la variation intraspécifique).

Justification

Pour les composés appartenant au Groupe III (pouvant être cancérogènes pour l'être humain), une concentration maximale acceptable provisoire (CMAP) de 2,4-D dans l'eau potable peut être calculée de la façon suivante :

$$\text{CMAP} = \frac{0{,}01 \text{ mg/kg p.c. par jour} \times 70 \text{ kg p.c.} \times 0{,}20}{1{,}5 \text{ L/jour}} = 0{,}09 \text{ mg/L}$$

où :

- 0,01 mg/kg p.c. par jour est l'AQA, calculé ci-haut
- 70 kg est le poids corporel moyen d'un adulte
- 0,20 est la proportion de l'apport quotidien total de 2,4-D affecté à l'eau potable (l'apport théorique maximal par voie alimentaire à partir des résidus présents dans la nourriture est de moins de 10 % de l'AQA)
- 1,5 L/jour est la consommation quotidienne moyenne d'eau potable pour un adulte.

La recommandation actuelle de 0,1 mg/L sera conservée pour le 2,4-D dans l'eau potable compte tenu de la faible différence entre l'ancienne et la nouvelle méthode de calcul, mais il s'agira maintenant, au lieu d'une concentration maximale acceptable (CMA), d'une valeur provisoire (CMAP) jusqu'à ce que de nouvelles études permettent de mieux caractériser le pouvoir cancérogène du 2,4-D et d'effectuer une nouvelle évaluation.

Références bibliographiques

1. Environnement Canada/Agriculture Canada. Pesticide Registrant Survey. Rapport de 1986. Direction générale des produits chimiques commerciaux, Environnement Canada, Ottawa (1987).

2. Organisation mondiale de la santé. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) — environmental aspects. Environmental Health Criteria 84. Programme international sur la sécurité des produits chimiques, Genève (1989).

3. Que Hee, S. S. et Sutherland, R.G. The phenoxyalkanoic herbicides. Vol. I. Chemistry, analysis, and environmental pollution. Chemical Rubber Company Series in Pesticide Chemistry. CRC Press, Boca Raton, FL (1981).

4. Organisation mondiale de la santé. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). Environmental Health Criteria 29. Programme international sur la sécurité des produits chimiques, Genève (1984).

5. Loos, M.A. Phenoxyalkanoic acids. Dans : Herbicides — chemistry, degradation, and mode of action. P.C. Kearney et D.D. Kaufman (dir. de publ.). Marcel Dekker, New York, NY (1975).

6. Altom, J.D. et Stritzke, J.F. Degradation of dicamba, picloram and four phenoxy herbicides in soil. Weed Sci., 21 : 556 (1973).

7. Smith, A. E. Degradation, fate, and persistence of phenoxyalkanoic acid herbicides in soil. Rev. Weed Sci., 4 (1989). Cité dans Smith, A.E., Aubin, A.J. et Biederbeck, V.O. Effects of long-term 2,4-D and MCPA field applications on soil residues and their rates of breakdown. J. Environ. Qual., 18 : 299 (1989).

8. Thompson, D.G., Stephenson, G.R., Solomon, K.R. et Skepasts, A.V. Persistence of (2,4-dichlorophenoxy) acetic acid and 2-(2,4-dichlorophenoxy) propionic acid in agricultural and forest soils of northern and southern Ontario. J. Agric. Food Chem., 32 : 578 (1984).

9. Sattar, M.A. et Paasivirta, J. Fate of chlorophenoxyacetic acids in acid soil. Chemosphere, 9 : 745 (1980).

10. Torstensson, N.T.L. Degradation of 2,4-D and MCPA in soils of low pH. Environ. Qual. Saf. (Suppl.), 3 : 262 (1975).

11. Sandmann, E.R.I.C., Loos, M.A. et van Dyk, L.P. The microbial degradation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in soil. Rev. Environ. Contam. Toxicol., 101 : 1 (1988).

12. Ou, L.-T. 2,4-D degradation and 2,4-D degrading microorganisms in soils. Soil Sci., 137 : 100 (1984).

13. U.S. Environmental Protection Agency. EPA draft final list of recommendations for chemicals in the national survey for pesticides in groundwater. Chem. Regul. Rep., 9 : 988 (1985).

14. McRae, B. Characterization and identification of potentially leachable pesticides and areas vulnerable to groundwater contamination by pesticides in Canada. Publication nº 89-01, Direction générale des pesticides, Agriculture Canada (1989) (révisé en 1991).

15. Conseil canadien des ministres des ressources et de l'environnement. Recommandations pour la qualité de l'eau au Canada. Direction générale des eaux intérieures, Environnement Canada (1987).

16. Hazardous Substances Databank. Toxicology Data Network, U.S. National Library of Medicine, Bethesda, MD (1989).

17. Conseil national de recherches du Canada. Phenoxy herbicides — their effects on environmental quality, with accompanying scientific criteria for 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). Associate Committee on Scientific Criteria for Environmental Quality, Ottawa (1978).

18. Gray, D. A., Sugatt, R. H., Foote, K., Wilbur, S.B., Remington, M.B., Rosenberg, A. et Orzel, D. Update and revision of multimedia criteria document for 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. SRC-Tr83-721, Syracuse Research Corporation, Syracuse, NY (1983).

19. Hiebsch, S.C. The occurrence of thirty-five pesticides in Canadian drinking water and surface water. Rapport non publié préparé pour la Direction générale de l'hygiène du milieu, ministère de la Santé et du Bien-être social (1988).

20. Frank, R. et Logan, L. Pesticide and industrial chemical residues at the mouth of the Grand, Saugeen and Thames rivers, Ontario, Canada, 1981–1985. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 17 : 741 (1988).

21. Gummer, W.D. Pesticide monitoring in the prairies of western Canada. Environ. Sci. Res., 16 : 345 (1980).

22. Yess, N.J. Food and Drug Administration Pesticide Program: Residues in foods — 1987. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 71(6) : 156A (1988).

23. McLeod, H.A., Smith, D.C. et Bluman, N. Pesticide residues in the total diet in Canada. V: 1976 to 1978, J. Food Saf., 2 : 141 (1980).

24. Grover, R., Kerr, L.A., Wallace, K., Yoshida, K. et Maybank, J. Residues of 2,4-D in air samples from Saskatchewan: 1966–1975. J. Environ. Sci. Health, B11(4) : 331 (1976).

25. Ministère de la Santé nationale et du Bien-être social. Water treatment principles and applications, a manual for the production of drinking water. Canadian Water and Wastewater Association, Ottawa (1993).

26. Khanna, S. et Fang, S.C. Metabolism of C-14 labeled 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in rats. J. Agric. Food Chem., 14 : 500 (1966).

27. Pelletier, O., Ritter, L., Caron, J. et Somers, D. Pharmacokinetics of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid dimethylamine salt in rats: dermal versus oral exposure. Agro (Am. Chem. Soc.), résumé 79 (1988).

28. Sauerhoff, M. W., Braun, W.H., Blau, G.E. et Gehring, P.J. The fate of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) following oral administration to man. Toxicology, 8 : 3 (1977).

29. Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture/Organisation mondiale de la santé. Pesticide residues in food. Report of the 1970 Joint Meeting of the FAO Working Party of Experts on Pesticide Residues and the WHO Expert Group on Pesticide Residues. FAO Agricultural Studies No. 87; World Health Organization Technical Report Series No. 474 (1971).

30. Frank, R., Campbell, R.A. et Sirons, G.J. Forestry workers involved in aerial application of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D): exposure and urinary excretion. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 14 : 427 (1985).

31. Moody, R.P., Franklin, C.A., Ritter, L. et Maibach, H.I. Dermal absorption of the phenoxy herbicides 2,4-D, 2,4-D amine, 2,4-D isooctyl, and 2,4,5-T in rabbits, rats, rhesus monkeys, and humans: a cross-species comparision. J. Toxicol. Environ. Health, 29 : 237 (1990).

32. Moody, R.P., Wester, R.C., Melendres, J.L. et Maibach, H.I. Dermal absorption of the phenoxy herbicide 2,4-D dimethylamine in humans: effect of DEET and anatomic site. J. Toxicol. Environ. Health, 36 : 241 (1992).

33. Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture/Organisation mondiale de la santé. 1975 evaluations of some pesticide residues in food. WHO Pesticide Residues Series No. 5, Organisation mondiale de la santé, Genève (1976).

34. Elo, H.A. et Ylitalo, P. Distribution of 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in male rats: evidence for the involvement of the central nervous system in their toxicity. Toxicol. Appl. Pharmacol., 51 : 439 (1979).

35. Kohli, J.D., Khanna, R.N., Gupta, B.N., Dhar, M.M., Tandon, J.S. et Sircar, K.P. Excretion of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in man. Xenobiotica, 4(2) : 97 (1974).

36. Knopp, D. et Glass, S. Biological monitoring of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid-exposed workers in agriculture and forestry. Int. Arch. Occup. Environ. Health, 63(5) : 329 (1991).

37. Gorzinski, S.J., Kociba, R.J., Campbell, R.A., Smith, F.A., Nolan, R.J. et Eisenbrandt, D.L. Acute, pharmacokinetic, and subchronic toxicological studies of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. Fundam. Appl. Toxicol., 9 : 423 (1987).

38. Vineis, P. et Zahm, S.H. Immunosuppressive effects of dioxin in the development of Kaposi's sarcoma and non-Hodgkin's lymphoma. Lancet, i : 55 (1988).

39. Hardell, L. et Sandstrom, A. Case-control study: soft tissue sarcomas and exposure to phenoxyacetic acids or chlorophenols. Br. J. Cancer, 39 : 711 (1979).

40. Hardell, L., Eriksson, M., Lenner, P. et Lundgren, E. Malignant lymphoma and exposure to chemicals, especially organic solvents, chlorophenols and phenoxy acids: a case-control study. Br. J. Cancer, 43 : 169 (1981).

41. Eriksson, M., Hardell, L., Berg, N.O., Moller, T. et Akelson, O. Soft-tissue sarcomas and exposure to chemical substances: a case-referent study. Br. J. Ind. Med., 38 : 27 (1981).

42. Centre international de recherche sur le cancer. Occupational exposures to chlorophenoxy herbicides. IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risk Chem. Hum., 41 : 357 (1986).

43. Hardell, L. et Eriksson, M. The association between soft tissue sarcomas and exposure to phenoxyacetic acids, a new case-referent study. Cancer, 62 : 652 (1988).

44. Eriksson, M., Hardell, L. et Adami, H.-O. Exposure to dioxins as a risk factor for soft tissue sarcoma: a population-based case-control study. J. Natl. Cancer Inst., 82 : 486 (1990).

45. Smith, A.H., Pearce, N.E., Fisher, D.O., Giles, H.J., Teague, C.A. et Howard, J.K. Soft tissue sarcoma and exposure to phenoxy-herbicides and chlorophenols in New Zealand. J. Natl. Cancer Inst., 75(5) : 1111 (1984).

46. Smith, A.H. et Pearce, N.E. Update on soft tissue sarcoma and phenoxyherbicides in New Zealand. Chemosphere 15 (9–12) : 1795 (1986).

47. Vineis, P., Terracini, B., Ciccone, G., Cignetti, A., Colombo, E., Donna, A., Maffi, L., Pisa, R., Ricci, P., Zanini, E. et Comba, P. Phenoxy herbicides and soft-tissue sarcomas in female rice weeders. A population-based case-referent study. Scand. J. Work Environ. Health, 13 : 9 (1986).

48. Hoar, S.K., Blair, A., Holmes, F.F., Boysen, C.D., Robel, R.J., Hoover, R. et Fraumeni, J.F. Agricultural herbicide use and risk of lymphoma and soft-tissue sarcoma. J. Am. Med. Assoc., 256(9) : 1141 (1986).

49. Woods, J.S., Polissar, L., Severson, R.K., Heuser, L.S. et Kulander, B.G. Soft tissue sarcoma and non-Hodgkin's lymphoma in relation to phenoxy herbicide and chlorinated phenol exposure in Western Washington State. J. Natl. Cancer Inst., 78 : 899 (1987).

50. Bond, G.G., Wetterstroem, N.H., Routh, G.J., McLaren, E.A., Lippe, R.E. et Cook, R.R. Cause specific mortality among employees engaged in the manufacture, formulation, or packaging of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and related salts. Br. J. Ind. Med., 45 : 98 (1988).

51. Lynge, E. A follow-up study of cancer incidence among workers in manufacture of phenoxy herbicides in Denmark. Br. J. Cancer, 52 : 259 (1985).

52. Wiklund, K., Dich, J. et Holm, L.-E. Risk of malignant lymphoma in Swedish pesticide appliers. Br. J. Cancer, 56 : 505 (1987).

53. Wiklund, K., Dich, J. et Holm, L.-E. Risk of soft tissue sarcoma, Hodgkin's disease and non-Hodgkin lymphoma among Swedish licensed pesticide applicators. Chemosphere, 18(1–6) : 395 (1989).

54. Coggon, D., Pannett, B. et Winter, P. Mortality and incidence of cancer at four factories making phenoxy herbicides. Br. J. Ind. Med., 48 : 173 (1991).

55. Saracci, R., Kogevinas, M., Bertazzi, P.-A., Bueno de Mesquita, B.H., Coggon, D., Green, L.M., Kauppinen, T., L'Abbe, K.A., Littorin, M., Lynge, E., Mathews, J.D., Neuberger, M., Osman, J., Pearce, N. et Winkelmann, R. Cancer mortality in workers exposed to chlorophenoxy herbicides and chlorophenols. Lancet, 338(8774) : 1027 (1991).

56. Hardell, L. Relation of soft-tissue sarcoma, malignant lymphoma and colon cancer to phenoxy acids, chlorophenols and other agents. Scand. J. Work Environ. Health, 7 : 119 (1981).

57. Zahm, S.K. (Hoar), Weisenburger, D.D., Babbitt, P.A., Saal, R.C., Vaught, J.B., Cantor, K.P. et Blair, A. A case-control study of non-Hodgkin's lymphoma and the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in eastern Nebraska. Epidemiology, 1 : 349 (1990).

58. Zahm, S.K. (Hoar), Weisenburger, D.D., Babbitt, P.A., Saal, R.C., Cantor, K.P. et Blair, A. A case-control study of non-Hodgkin's lymphoma and agricultural factors in eastern Nebraska. Am. J. Epidemiol., 128(4) : 901 (1988).

59. Pearce, N.E., Smith, A.H., Howard, J.K., Sheppard, R.A., Giles, H.J. et Teague, C.A. Non-Hodgkin's lymphoma and exposure to phenoxy herbicides, chlorophenols, fencing work and meat works employment: a case-control study. Br. J. Ind. Med., 43 : 75 (1986).

60. Pearce, N.E., Sheppard, R.A., Smith, A.H. et Teague, C.A. Non-Hodgkin's lymphoma and farming: an expanded case-control study. Int. J. Cancer, 39 : 155 (1987).

61. Vineis, P., Faggiano, F., Tedeschi, M. et Ciccone, G. Incidence rates of lymphomas and soft-tissue sarcomas and environmental measurements of phenoxy herbicides. J. Natl. Cancer Inst., 83 : 362 (1991).

62. Wigle, D.T., Semenciw, R.M. et Wilkins, K. Mortality study of Canadian male farm operators: non-Hodgkin's lymphoma mortality and agricultural practices in Saskatchewan. J. Natl. Cancer Inst., 82 : 575 (1990).

63. Centre international de recherche sur le cancer. Overall evaluation of carcinogenicity: an updating of IARC monographs Volumes 1 to 42. IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risk Chem. Hum., Suppl. 7 : 156 (1987).

64. Blair, A., Malker, H., Cantor, K.P., Burmeister, L. et Wiklund, K. Cancer among farmers: a review. Scand. J. Work Environ. Health, 11 : 397 (1985).

65. Newcombe, D. S. Hypothesis: immune surveillance, organo-phosphorus exposure, and lymphomagenesis. Lancet, 339(8792) : 539 (1992).

66. Linnainmaa, K. Sister chromatid exchanges among workers occupationally exposed to phenoxy acid herbicides 2,4-D and MCPA. Teratogen. Carcinogen. Mutagen., 3 : 269 (1983).

67. Mustonen, R., Kangas, J., Vuojolahti, P. et Linnainmaa, K. Effect of phenoxyacetic acids on the induction of chromosome aberrations *in vitro* and *in vivo*. Mutagenesis, 1 : 241 (1986).

68. Vaino, H., Linnainmaa, K., Kahonen, M., Nickels, J., Hietanen, E., Marniemi, J. et Peltonen, P. Hypolipidemia and peroxisome proliferation by phenoxy acetic acid herbicides in rats. Biochem. Pharmacol., 32 : 2775 (1983).

69. Reddy, J.K. et Azarnoff, D.L. Hypolipidemic hepatic proliferators form a novel class of chemical carcinogens. Nature, 283 : 397 (1980).

70. Linnainmaa, K. Induction of sister chromatid exchanges by the peroxisome proliferators 2,4-D, MCPA, and clofibrate *in vivo* and *in vitro*. Carcinogenesis, 5 : 703 (1984).

71. Abdellatif, A.G., Preat, V., Vamecq, J., Nilsson, R. et Roberfroid, M. Peroxisome proliferation and modulation of rat liver carcinogenesis by 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid, perfluorooctanoic acid and nafenopin. Carcinogenesis, 11 : 1899 (1990).

72. Données du groupe de travail de l'industrie sur le 2,4-D. Combined toxicity and oncogenicity study in rats — 2,4-dichlorophenoxy acetic acid. Project No. 2184-103, Hazleton Laboratories America, Inc. (1986).

73. Données du groupe de travail de l'industrie sur le 2,4-D. Summary of preliminary pathology report — oncogenicity study in mice with 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, Project No. 2184-105, Hazleton Laboratories America, Inc. (1986).

74. Centre international de recherche sur le cancer. Some fumigants, the herbicides 2,4-D and 2,4,5-T, chlorinated dibenzodioxins and miscellaneous industrial chemicals. *IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risk Chem. Man*, 15 : 111 (1977).

75. Centre international de recherche sur le cancer. Chemicals, industrial processes and industries associated with cancer in humans. IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risk Chem. Hum., Suppl. 4 : 101 (1982).

76. Hayes, H.M., Tarone, R.E., Cantor, K.P., Jessen, C.R., McCurnin, D.M. et Richardson, R.C. Case-control study of canine malignant lymphoma: positive association with dog owner's use of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid herbicides. J. Natl. Cancer Inst., 83 : 1226 (1991).

77. Centre international de recherche sur le cancer. Genetic and related effects: an updating of selected IARC Monographs from Volumes 1 to 42. IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risk Chem. Hum., Suppl. 6 : 233 (1987).

78. Zetterberg, G., Busk, L., Elovson, I., Staree-Nordenhammar, I. et Ryttman, H. The influence of pH on the effects of 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid Na salt) on *Saccharomyces cerevisiae* and *Salmonella typhimurium*. Mutat. Res., 91 : 215 (1977).

79. Probst, G.S., McMahon, R.E., Hill, L.E., Thompson, C.Z., Epp, J.K. et Neal, S.B. Chemically-induced unscheduled DNA synthesis in primary rat hepatocyte cultures: a comparison with bacterial mutagenicity using 218 compounds. Environ. Mutagen., 3 : 11 (1981).

80. Simmon, V.F. *In vitro* microbiological mutagenicity and unscheduled DNA synthesis of eighteen pesticides. No. 600/1-19-041, U.S. Environmental Protection Agency (1979). Cité dans Munroe, I. Expert panel report on carcinogenicity of 2,4-D, Canadian Centre for Toxicology, Guelph (1987).

81. Ahmed, F.E., Hart, R.W. et Lewis, N.J. Pesticide induced DNA damage and its repair in cultured human cells. Mutat. Res., 42 : 161 (1977).

82. Korte, C. et Jalal, S.M. 2,4-D induced clastogenicity and elevated rates of sister chromatid exchanges in cultured human lymphocytes. J. Hered., 73 : 224 (1982).

83. Lamb, J.C., Marks, T.A., Gladen, B.C., Allen, J.W. et Moore, J.A. Male fertility, sister chromatid exchange, and germ cell toxicity following exposure to mixtures of chlorinated phenoxy acids containing 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. J. Toxicol. Environ. Health, 8 : 825 (1981).

84. Mustonen, R., Elovaara, E., Zitting, A., Linnainmaa, K. et Vaino, H. Effects of commercial chlorophenolate, 2,3,7,8-TCDD, and pure phenoxyacetic acids on hepatic peroxisome proliferation, xenobiotic metabolism and sister chromatid exchange in the rat. Arch. Toxicol., 63 : 203 (1989).

85. Adhikari, N. et Grover, I.S. Genotoxic effects of some systemic pesticides: *in vivo* chromosomal aberrations in bone marrow cells in rats. Environ. Mol. Mutagen., 12 : 235 (1988).

86. Hansen, W.H., Quaife, M., Habermann, R.T. et Fitzhugh, O.G. Chronic toxicity of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in rats and dogs. Toxicol. Appl. Pharmacol., 20 : 122 (1971).

87. U. S. Environmental Protection Agency, Health advisory — 2,4-D. Rev. Environ. Contam. Toxicol., 104 : 63 (1988).

88. Schwetz, B.A., Sparschu, G.L. et Gehring, P.J. The effect of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and esters of 2,4-D on rat embryonal, foetal and neonatal growth and development. Food Cosmet. Toxicol., 9 : 801 (1971).

89. Schillinger, J.I. Hygienische Wertung von landwirtschaftlichen Erzeugnissen, angebaut unter Anwndung von Herbiziden. J. Hyg. *Epidemiol. (Praha), 4 : 243 (1960). Cité dans la référence 70.*

90. Bjorklund, N.-E. et Erne, K. Toxicological studies of phenoxy-acetic herbicides in animals. Acta Vet. Scand., 7 : 364 (1966)

91. Collins, T.F. et Williams, C.H. Teratogenic studies with 2,4,5-T and 2,4-D in the hamster. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 6 : 559 (1971).

92. Khera, K.S. et McKinley, W.P. Pre- and postnatal studies on 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and their derivatives in rats. Toxicol. Appl. Pharmacol., 22 : 14 (1972).

93. Unger, T.M., Kliethermes, J., Van Goeham, D. et Short, R.D. Teratology and postnatal studies in rats on propylene glycol butyl ether and isooctyl esters of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. Report No. 60/12-80, U.S. Environmental Protection Agency (1980). Cité dans la référence 4.

94. Courtney, K.D. Prenatal effects of herbicides: evaluation by the prenatal development index. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 6 : 33 (1977).